

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**E.A.P DE ODONTOLOGÍA**

**Especies del género *Candida* implicadas en estomatitis  
subprotésica de pacientes del Departamento de  
Odontoestomatología del Centro Médico Naval  
"CMST"-2007**

**TESIS**

para optar el título profesional de Cirujano Dentista

**AUTOR**

Luis Alberto Rojas Zumaeta

**ASESOR**

Elba Estefanía Martínez Cadillo

**Lima – Perú**

**2008**

***A Dios Padre,  
por ser nuestro creador y guía***

***A mi hijo Alejandro,  
por ser el motor  
que me impulsa a progresar  
y porque le da sentido a mi vida***

***A mis padres, por su ejemplo  
de entrega y dedicación  
y por su apoyo incondicional.***

## **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece infinitamente la colaboración de las instituciones y el apoyo de todas aquellas personas que hicieron posible el desarrollo del presente estudio:

- Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Centro Médico Naval “Cirujano Mayor Santiago Távara”, Departamento de Odontoestomatología y Servicio de Microbiología del Departamento de Patología Clínica.
- Dr. Jesús Díaz Franco, Patólogo Clínico Jefe del Servicio de Microbiología del Departamento de Patología Clínica del Centro Médico Naval, por su gran apoyo y colaboración en el procesamiento de laboratorio.

Asesor(a):

- Blg. Elba Martínez Cadillo, docente de Ciencias Básicas en la Facultad de Odontología de la UNMSM, área de Microbiología y Bioquímica, y asesora de la presente investigación; por su disposición permanente, su apoyo e interés durante el desarrollo de todas las etapas de la misma.

- Dr. Fernando Franco Aguilar, Jefe del Departamento de Odontoestomatología del Centro Médico Naval “Cirujano Mayor Santiago Távara” por autorizar y facilitar la ejecución del estudio.
- Dr. Walter Gallo Zapata, Jefe del Servicio de Rehabilitación oral del Departamento de Odontoestomatología del Centro Médico Naval “Cirujano Mayor Santiago Távara”, su incondicional apoyo, su cercana identificación y permanente colaboración en la ejecución del estudio.
- Personal del Servicio de Microbiología del Centro Médico Naval “Cirujano Mayor Santiago Távara” que a petición de ellos se quisieron mantener en el anonimato, gracias por su apoyo desinteresado y cordialidad en todo momento.
- Nancy Guiulfo Crispin, por mantenerme en pie de lucha y darme ánimos ante las adversidades y obstáculos, gracias por estar ahí.

## **JURADO DE SUSTENTACIÓN**

- **Presidente:** *Mg. C.D. Carlos Alberto Arroyo Pérez*
- **Miembro:** *Mg. C.D. Luis Alberto Cuadrao Zavaleta*
- **Miembro (asesor):** *Blg. Elba Estefanía Martínez Cadillo*

**FECHA:** 22 de julio del 2008

**HORA:** 11:00 A.M.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	MARCO TEÓRICO	
	2.1. Antecedentes .....	2
	2.2. Bases teóricas .....	12
	2.2.1. Estomatitis subprotésica .....	12
	2.2.1.1. Definición .....	12
	2.2.1.2. Clasificación .....	12
	2.2.1.3. Epidemiología .....	13
	2.2.1.4. Etiología .....	13
	2.2.1.4.1. Trauma protético .....	14
	2.2.1.4.2. Higiene de la prótesis .....	16
	2.2.1.4.3. Reacción alérgica .....	17
	2.2.1.4.4. Infección candidiásica .....	19
	2.2.1.4.5. Factores sistémicos predisponentes .....	19
	2.2.1.5. Diagnóstico .....	20
	2.2.1.6. Clínica .....	20
	2.2.1.7. Tratamiento .....	21
	2.2.2. Hongos .....	23
	2.2.2.1. Género <i>Candida</i> .....	24

2.2.2.2. <i>Candida albicans</i> .....	25
2.2.2.2.1. Generalidades .....	25
2.2.2.2.2. Epidemiología y fisiopatogenia.....	27
2.2.2.2.3. Patogénesis y factores de virulencia ....	29
2.2.2.2.4. Identificación .....	44
2.2.2.2.4.1. Api Candida .....	45
2.2.2.3. Enfermedades micóticas .....	51
2.2.2.3.1. Clasificación .....	51
2.2.2.3.2. Medio diagnóstico .....	53
2.2.2.3.3. Pruebas diagnósticas de laboratorio.....	54
2.2.2.3.4. Farmacología .....	55
2.2.2.3.4.1. Nistatina y Anfotericina B.....	56
2.2.2.3.4.2. Fluconazol .....	56
2.2.2.3.4.3. Ketoconazol .....	57
2.2.2.3.4.4. Miconazol .....	58
2.2.2.4. Candidiasis orales .....	59
2.2.2.4.1. Factores predisponentes .....	58
2.2.2.4.2. Formas clínicas .....	58
2.3. Planteamiento del Problema .....	61
2.4. Justificación.....	61
2.5. Objetivos de la investigación .....	62
2.6. Hipótesis .....	63

### **III. MATERIALES Y METODOS**

<b>3.1. Tipo de estudio .....</b>	<b>64</b>
<b>3.2. Población y muestra .....</b>	<b>64</b>
<b>3.2.1. Población.....</b>	<b>64</b>
<b>3.2.2. Muestra .....</b>	<b>64</b>
<b>3.2.2.1. Unidad de análisis .....</b>	<b>65</b>
<b>3.2.2.2. Criterios de inclusión .....</b>	<b>65</b>
<b>3.2.2.3. Criterios de exclusión .....</b>	<b>65</b>
<b>3.3. Operacionalización de variables .....</b>	<b>66</b>
<b>3.4. Materiales y métodos</b>	
<b>3.4.1. Materiales .....</b>	<b>66</b>
<b>3.4.2. Procedimientos y técnicas .....</b>	<b>67</b>
<b>3.4.3. Recolección de datos .....</b>	<b>68</b>
<b>3.4.3.1. Toma de muestra .....</b>	<b>68</b>
<b>3.4.3.2. Transporte de la muestra .....</b>	<b>69</b>
<b>3.4.3.3. Estudio microbiológico .....</b>	<b>69</b>
<b>3.4.3.4. Examen directo .....</b>	<b>69</b>
<b>3.4.3.5. Cultivo .....</b>	<b>69</b>
<b>3.4.3.6. Identificación de levaduras .....</b>	<b>69</b>
<b>3.4.3.6.1. Prueba del tubo germinal .....</b>	<b>69</b>
<b>3.4.3.6.2. Sistema Api Candida .....</b>	<b>70</b>



<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>73</b>
<b>V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>91</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>95</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>96</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>97</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>98</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>99</b>
<b>ANEXOS</b>	
<b>ANEXO 1: Hoja de Consentimiento informado .....</b>	<b>104</b>
<b>ANEXO 2: Ficha de recolección de datos .....</b>	<b>105</b>
<b>ANEXO 3: Fluxograma del procedimiento de laboratorio .....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXO 4: Figuras del procedimiento de laboratorio .....</b>	<b>107</b>

## **I. INTRODUCCIÓN:**

El odontólogo general y el especialista tiene entre sus variantes de tratamiento, planes para solucionar los problemas a los pacientes edéntulos parciales o totales, como la confección de prótesis dentales fijas (coronas, incrustaciones) y removibles (parciales y totales).

Entre el 25-65% aproximadamente de pacientes portadores de prótesis removibles presenta inflamación de la mucosa que las soporta llamándose a ésta patología: estomatitis subprotésica. La etiología de esta enfermedad es multifactorial, principalmente asociada a trauma de la prótesis contra los tejidos, higiene bucal deficiente, infecciones micóticas y porosidades del acrílico de las prótesis.

Las infecciones micóticas están consideradas uno de los principales factores etiológicos de la estomatitis subprotésica. Desde 1936 se la ha relacionado con el género *Candida*. Esta afirmación viene siendo apoyada por la respuesta favorable lograda en muchos pacientes con terapia antifúngica.

No todos los tipos de estomatitis subprotésica son causadas por hongos, por esto nace la inquietud de determinar si en la estomatitis subprotésica están presentes especies de *Candida*, así como, determinar cuáles son y con qué frecuencia se presentan en pacientes pertenecientes a nuestra sociedad.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

Cabe destacar que en el Perú no existen trabajos similares, los más importantes realizados por Lazarde y Pardi en Venezuela, los cuales sirvieron como inspiración para la realización del presente.

**Kulak Y y cols (1994)**, compararon los efectos terapéuticos de fluconazol y de fluconazol más clorhexidina en pacientes con estomatitis subprotésica y pudieron comprobar que los pacientes medicados con la segunda modalidad de tratamiento presentaron mejoría notoria de la inflamación del paladar y una significativa reducción en la colonización de *Candida* en comparación con aquellos pacientes a los cuales sólo se les medicó con fluconazol o a los que sólo se les confeccionó nuevas prótesis sin medicación <sup>(1)</sup>.

**Rodríguez A y cols (1996)**, realizaron una investigación en 44 pacientes que usaban prótesis dental, de los cuales 29 tenían estomatitis subprotésica y en 19 de ellos se logró aislar a *Candida albicans*, los 10 restantes resultaron negativos <sup>(2)</sup>.

**Cardozo y cols (1996)**, en un estudio realizado en 20 pacientes con estomatitis subprotésica causada por *Candida* comprobaron la eficacia de la Anfotericina B tópica (Vencidin®) en el tratamiento de ésta patología. Los pacientes fueron medicados cuatro veces al día durante 15 días, y se aplicó en la mucosa del paladar duro afectado y sobre la superficie de la prótesis <sup>(3)</sup>.

**Martínez G y cols (1997)**, donde se propusieron identificar y tipificar las levaduras del género *Candida* en cavidad oral de pacientes VIH positivos y SIDA, se logró determinar que la forma clínica de presentación más predominante fue la pseudomembranosa y que las especies de levaduras más frecuentemente involucrada en los aislamientos fue *Candida albicans* (54.1%) y *Candida tropicalis* (8.1%) <sup>(4)</sup>.

**Martín-Mazuelos E y cols (1997)**, realizaron un estudio para conocer la eficacia clínica y microbiológica del tratamiento con fluconazol e itraconazol en 115 pacientes afectados con estomatitis subprotésica asociada a *Candida spp.* Los pacientes que presentaron cultivos positivos fueron tratados con fluconazol, a los 15 días se les realizó otra toma y cultivo de la muestra, y si presentaban positividad eran medicados con itraconazol. Después del tratamiento con fluconazol hubo mejoría clínica de 100% y microbiológica de 77%. Los casos de resistencia microbiológica al fluconazol fueron tratados con itraconazol obteniéndose una mejoría clínica de 100% y microbiológica de 77%. Estos resultados muestran la poca correlación en la respuesta clínica-microbiológica después del tratamiento con éstos antimicóticos en estomatitis subprotésica <sup>(5)</sup>.

**Macneill S y cols (1997)**, realizaron un estudio in vitro, para comprobar el efecto del Hidrocloruro de tetraciclina y gluconato de clorhexidina en el crecimiento y viabilidad de *Candida albicans*. Los resultados demostraron que el Hidrocloruro de Tetraciclina usado en altas concentraciones, permitió inhibir el crecimiento de *C. albicans* mientras que el gluconato de clorhexidina inhibió su crecimiento y replicación celular <sup>(6)</sup>.

**Giuliana G y cols (1997)**, realizaron un estudio in vitro, para conocer las propiedades antimicóticas de siete enjuagues bucales comerciales los cuales contenían agentes antimicrobianos tales como: cloruro de cetilpiridinio al 0,05%, digluconato de clorhexidina al 0,2%, hexetidina al 0,1%, sanguinarina al 3% y triclosan al 0,045%. Se usaron seis especies de levaduras: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Torulopsis glabrata* y *Saccharomyces cerevisiae*. Los enjuagues que contenían cloruro de cetilpiridinio y digluconato de clorhexidina presentaron mayor actividad fungicida. Éstos investigadores sugieren que los enjuagues bucales que contienen antimicrobianos pueden representar una alternativa de tratamiento contra la terapia convencional para la candidiasis bucal Sin embargo, se requiere de una mayor evaluación clínica de éstos productos <sup>(7)</sup>.

**Dinatale E (1998)**, realizó un estudio en 60 pacientes que presentaban estomatitis subprotésica, de los cuales 41(68.3%) (en 32 de estos cultivos (78%) se identificó *Candida albicans* mediante las pruebas de formación de tubos germinales y clamidosporas) eran positivos a *Candida* y 19(31,7%) eran negativos. A éstos

pacientes con cultivo negativo se les realizó la prueba alérgica del parche (Patch test) y sólo en 2 casos (10,5 %) la prueba resultó positiva <sup>(8)</sup>.

**Cidranes BM y col (1998)**, realizaron un estudio descriptivo y retrospectivo en el período de enero de 1996 a diciembre de 1997. El universo lo constituyeron 803 pacientes que acudieron al servicio de Prótesis para ser examinados previo al tratamiento, 135 presentaron impedimentos para iniciar el mismo. Las alteraciones observadas en la cavidad bucal en los pacientes portadores de prótesis fueron producto de iatrogenia en su confección o deterioro de su uso, siendo las causas más comunes de impedimentos para comenzar el tratamiento las migraciones óseas y dentarias. De los 135 pacientes que presentaron dificultades en el momento de ser valorados para iniciar el tratamiento protésico el 65,7% presentaron alteraciones y no tenían experiencia protésica anterior y el 34,3% presentó lesiones en su cavidad bucal producto de prótesis inadecuadas. Se observó en los portadores de prótesis inadecuadas que se destacan las alteraciones paradentales con el 22,3%; las estomatitis protésicas con el 15,5% y la reabsorción ósea con el 13,3%; las menos frecuentes fueron la queilitis angular y épulis fisurado con el 4,6%, respectivamente <sup>(9)</sup>.

**Campos BM y cols (1999)**, estudiaron la prevalencia del género *Candida* en pacientes geriátricos, se determinó que el grupo etáreo más afectado fue el de 60 a 69 años de edad y al comparar estos resultados con el resto del grupo lograron

concluir que la presencia de colonias de *Candida* fue disminuyendo conforme aumentaba la edad <sup>(10)</sup>.

**Giuliana G y cols (1999)**, realizaron un estudio in vitro para determinar la actividad antimicótica y fungicida de cuatro agentes antimicrobianos: cloruro de cetilpiridinio, digluconato de clorhexidina, cloruro sanguinarina y hexetidina contra *Candida spp.* Todos los agentes antimicrobianos mostraron actividad antimicótica. El cloruro de cetilpiridinio presentó mayor actividad fungicida mientras que el de menor actividad fue el cloruro sanguinarina contra las levaduras aisladas <sup>(11)</sup>.

**Bello Y y col (1999)**, determinaron la presencia de *Candida albicans* en pacientes geriátricos, se revisaron 150 pacientes de 60 a 104 años. Mediante citología exfoliativa bucal de carrillo y lengua, y tinción de Papanicolaou, se observaron las laminillas con microscopio óptico a 10X, cuantificando las colonias de *Candida*, observadas en 5 campos. Se determinó la significancia estadística de la diferencia de promedios para las colonias de hongos de *Candida* bucal en cada década de la vida de los pacientes, utilizando la prueba «t» de Student. A un valor de confianza de mayor o igual a 0.05. Al comparar los promedios de *Candida* obtenidos en las décadas de 80 a 104 entre 60 a 69 años la diferencia fue estadísticamente significativa e inclusive al comparar ésta última década con la de 70 a 79 años también fue estadísticamente significativa, por lo cual se confirma la hipótesis del trabajo, disminuyendo las colonias de *Candida* en cavidad bucal conforme el paciente va presentando mayor edad <sup>(12)</sup>.

**Mata HM y col (2000)**, analizaron 40 pacientes portadores de prótesis y se correlacionaron los datos con un grupo control, analizándose muestras para *C. albicans* en mucosa y superficie de prótesis. Se observó alta positividad para *Candida albicans* en pacientes con estomatitis protésica, tanto en los portadores de prótesis totales como en prótesis parciales. No se demostraron diferencias significativas entre sexo y presencia de *Candida albicans*. Ninguna correlación entre hábitos de higiene bucal y positividad para *Candida albicans*, no pudo ser demostrada <sup>(13)</sup>.

**Carreira PV y col (2000)**, estudiaron 100 pacientes desdentados totales maxilares y portadores de prótesis desajustadas. El 70 % de los pacientes estudiados presentaron una mucosa alterada, con un predominio de estomatitis subprótesis grado II en el 44,3 % y de grado III con menor frecuencia (21,4 %). La lesión se ubicó preferentemente en la zona media y posterior de la bóveda palatina, para el 44,3 y 34,3 %, respectivamente. Presentaban la lesión en la zona media 31 pacientes, para el 44,4 % y en ésta zona prevaleció la estomatitis subprótesis grado II, para el 58 %, seguido por 24 pacientes con lesión en la zona posterior (34,2 %) con una prevalencia en ésta zona del grado I de la lesión (58,3 %). Con respecto al hábito de uso de las prótesis, de los 100 pacientes estudiados 75 presentaban uso continuo de éstas, mientras que sólo 25 tenían hábito de uso discontinuo. De los que usaban la prótesis constantemente, 62 presentaron la mucosa alterada, en los que predominó la estomatitis grado II con el 96,8 % y las



lesiones se observaron con mayor frecuencia en las zonas media y posterior, con el 80,6 y 91,6 %, respectivamente <sup>(14)</sup>.

**Lazarde J y Pacheco A (2001)**, estudiaron 40 pacientes, quienes presentaron signos clínicos y microbiológicos de candidiasis atrófica crónica. El 40% de los pacientes pertenecían al rango de edades de 51 a 60 años, y el 97.5% pertenecían al sexo femenino. Al evaluar la presencia de prótesis dental en éstos pacientes, se pudo evidenciar que el 67.5% usaban prótesis total y el 32.5% prótesis parcial removible. En cuanto a la identificación de las especies de *Candida*, se obtuvo que el 72.5% correspondió a *C. albicans*, el 15% a *C. tropicalis*, el 2% a *T. glabrata* y *C. famata*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa* representaron el 1% respectivamente <sup>(15)</sup>.

**Lazarde J (2001)**, evaluó 456 historias clínicas (1987-1997) de los pacientes que presentaban estomatitis subprotésica, Los pacientes que usaban prótesis dental total fueron 345 representando el 75,66% y con prótesis parcial removible 111 (24,34%). Al evaluar los resultados de la toma de muestra y cultivos se pudo evidenciar que 236 fueron positivos (51,76%) y 220 negativos (48,24%). Al realizar la identificación de levaduras y cultivos positivos, se comprobó que *Candida albicans* fue la especie más frecuente con 211 casos (89,40%). Con respecto a la identificación de las especies de *Candida*, se pudo demostrar que el 72.5%

correspondió a *C. albicans*, el 15% a *C. tropicalis*, el 2% a *T. glabrata* y *C. famata*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa* representaron el 1% respectivamente <sup>(16)</sup>.

**Pardi G y cols (2001)**, tuvieron como objetivo detectar las especies de *Candida* presentes en pacientes con E.S.P., que acudieron al servicio de Clínica Estomatológica de la Facultad de Odontología de la U.C.V. Se seleccionaron 40 pacientes, los cuales fueron divididos en 2 grupos: 1) Grupo Experimental, conformado por 30 pacientes con E.S.P. y 2) Grupo Control, conformado por 10 pacientes sin E.S.P. La identificación de las especies de *Candida* se basó en la observación de las colonias, en la visualización de las levaduras, tubos germinales y clamidosporas, así como en la realización de pruebas rápidas de asimilación de carbohidratos mediante el sistema API 20 C AUX (Biomérieux). Los resultados de este estudio demostraron que *C. albicans* fue la especie más frecuentemente detectada en los pacientes con E.S.P. De igual forma, *C. albicans* se identificó en algunos de los pacientes del grupo control a partir de muestras tomadas de paladar. <sup>(17)</sup>

**Alvarado PD y cols (2002)**, estudiaron un total de 50 cepas de levaduras aisladas entre 1998 y 1999, obtenidas de muestras clínicas representativas de infecciones fúngicas invasoras en 17 pacientes adultos y 33 niños internados en unidades críticas de centros hospitalarios chilenos. Los organismos correspondieron al primer aislamiento de la levadura en cada paciente, siendo representativos del

primer episodio de la micosis. La distribución de las especies fue como sigue: *C albicans* (54%), *C parapsilosis* (24%), *C tropicalis* (12%) y *C glabrata* (10%) <sup>(18)</sup>.

**Sotomayor JC y cols (2002)**, en la residencia de las Hermanitas de los Ancianos Desamparados, Breña, Lima, Perú. Se estudiaron 57 adultos de la tercera edad portadores de Prótesis Totales Mucosoportadas (29 hombres y 28 mujeres), con una media de 79 años de edad. Se determinó que un 73,7 % presentaba alteraciones clínicas en la mucosa bucal asociadas al uso de las prótesis totales. Las alteraciones que se presentaron con más frecuencia fueron: estomatitis subplaca en un 33,3 %; úlcera traumática en el 21,4% hiperplasia en el 16,7 %; leucoplasia en el 11,9 %; queilitis angular en el 9,5 %; y candidiasis pseudomembranosa en un 7,1 % <sup>(19)</sup>.

**Ruiz AJ y cols (2003)**, evaluaron la utilidad de un nuevo medio cromogénico diferencial CHROMagar Candida frente a dos medios de eficacia probada. Ensayaron 34 levaduras de diferentes especies, pertenecientes a ocho géneros: *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Blastoschizomyces*, *Rhodotorula*, *Kloeckera*, *Pichia* y *Saccharomyces*. Tras su correcta identificación se cultivaron en los tres medios a estudiar, apreciando la morfología colonial, color y capacidad de crecimiento. En el nuevo medio las colonias presentaron un tamaño menor y más intensidad de color. Muchas especies ofrecieron el mismo morfotipo. El nuevo medio CHROMagar Candida no muestra la misma eficacia que los otros medios para la identificación de especies de levaduras, al presentar menor sensibilidad, requerir un mayor tiempo de incubación para que las colonias se desarrollen y

dificultar la diferenciación de algunas especies de interés clínico como *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* y *C. Parapsilosis* <sup>(20)</sup>.

**Espina ML y cols (2005)**, evaluaron 456 historias clínicas de pacientes con estomatitis subprotésica en la que se pudo evidenciar que 236 pacientes (51,76%) presentaron cultivos positivos y 220 pacientes (48,24%) cultivos negativos <sup>(21)</sup>.

**Romo AE y cols (2006)**, analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), la adherencia de *Candida albicans in vitro*, sobre muestras de resina acrílica de polimetilmetacrilato usadas para bases de dentaduras, las cuales fueron procesadas con tres diferentes técnicas. Se elaboraron 18 muestras de resina acrílica con tres técnicas de procesamiento, en las cuales se inoculó *Candida albicans in vitro* durante 24 y 48 h; dichas muestras se observaron mediante MEB <sup>(22)</sup>.

**Noguera GA y col (2006)**, en la Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, estado Mérida, determinaron, sobre una muestra de 59 sujetos entre 40 y 80 años de edad, portadores de dentaduras totales, durante el período de un año. 56% de la muestra presentó estomatitis subprotésica, la cual fue encontrada con mayor frecuencia en el género femenino <sup>(23)</sup>.

**Ynca CJ (2006)**, para la toma de muestra en pacientes con candidiasis bucal la realizó mediante un frotis de la lesión con un hisopo estéril sobre la lesión

colocando las muestras en tubos de ensayo con solución salina al 0.9%. El transporte lo realizó la autora dentro de los 15 minutos después de la toma de muestra a los Laboratorios de Micología de los dos hospitales en donde tomó la muestra a temperatura ambiente. En cuanto a los resultados, determinó la frecuencia de cepas en 30 muestras: *Candida albicans* (70.73%), *C. tropicalis* (14.63%), *C. glabrata* (7.32%), *C. krusei* (4.88%), *C. guilliermondi* (2.44%) <sup>(24)</sup>.

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Estomatitis subprotésica**

#### **2.2.1.1. Definición:**

Estomatitis subprotésica es un término que ha sido aplicado a la inflamación de la mucosa de soporte de las prótesis afectando principalmente a la población de edad avanzada, portadores de prótesis dentales <sup>(11)</sup>.

Esta condición fue descrita como: mucosa inflamada subprotésica, palatitis subprotésica crónica, estomatitis subprotésica, estomatitis venenata, candidiasis atrófica crónica, estomatitis con relación a prótesis, estomatitis protésica <sup>(11) (14)</sup>.

El término "Estomatitis subprotésica" ha sido universalmente aceptado por muchos autores. <sup>(3) (9) (11)</sup>.

#### **2.2.1.2. Clasificación:**

Newton en 1962, propuso una clasificación de ésta entidad basada en la apariencia clínica de inflamación de la mucosa de los maxilares por debajo de la prótesis, a saber:

- **Tipo I: Inflamación simple localizada:** Signos inflamatorios mínimos, generalmente asintomáticos. Pueden aparecer áreas hiperémicas localizadas o en forma de pequeños puntos eritematosos. Es la lesión mínima visible a la inspección.
- **Tipo II Inflamación simple generalizada:** Lesión francamente inflamatoria. Puede observarse el dibujo de los contornos de la prótesis, la superficie mucosa es de color rojo brillante, aparecen áreas eritematosas difusas que pueden cubrirse total o parcialmente por un exudado blanco-grisáceo. Generalmente el paciente expresa alguna sensación subjetiva.
- **Tipo III: Inflamación granular o papilar hiperplásica:** Lesión constituida por una mucosa gruesa, con gránulos irregulares que, a veces, toman aspecto papilar con las alteraciones máximas en la parte central de la mucosa palatina. La magnitud de los signos inflamatorios es variable y generalmente sobre éstos predominan los fenómenos proliferativos <sup>(15)</sup>.

#### **2.2.1.3. Epidemiología:**

La prevalencia de estomatitis subprotésica en los pacientes que usan prótesis ha sido reportada entre un 25 a 65 %. . Esta patología es más común en pacientes con edades comprendidas entre 25 y 90 años y del sexo femenino <sup>(3) (11)</sup>.

#### **2.2.1.4. Etiología:**

La mayoría de los estudios realizados reportan que la etiología de la estomatitis subprotésica es multifactorial. Sin embargo, mencionan como causas las siguientes:

- Trauma ocasionado por la dentadura (incluyendo uso continuo de la prótesis).
- Higiene de la prótesis (incluyendo reacción a la placa dental).
- Reacción irritante y alergia al material de la base de la prótesis.
- Factores dietéticos (incluyendo los que causan deficiencias hematológicas).
- Infección micótica.
- Factores sistémicos (incluyendo factores predisponentes) <sup>(11)</sup>.

#### **2.2.1.4.1. Trauma protético**

El trauma producido por la dentadura ha sido frecuentemente citado como un posible factor predisponente en la etiología de la estomatitis subprotésica y las prótesis mal ajustadas con una incorrecta relación de los maxilares pueden causar daño a los tejidos de soporte <sup>(11) (14)</sup>.

Generalmente se admite que la ES Grado I es causada únicamente por el trauma. Las alteraciones provocadas por estas prótesis inadecuadas pueden tener diferentes orígenes relacionados, por ejemplo, con la impresión definitiva. En aquellos casos en los que la extensión de la impresión es excesiva encontraremos interferencias de la prótesis con la musculatura de la mejilla que provocarán la

ulceración de la mucosa, fenómeno que con gran frecuencia se observa en la zona del fondo del vestíbulo. Una incorrecta impresión con zonas de presión selectiva ocasionada, en muchos casos, por la cubeta individual, así como un vaciado incorrecto con poros en el modelo, conducirá inevitablemente a la aparición de lesiones que podrían desarrollarse en cualquiera de las zonas de superficie de soporte.

Por otro lado, aquellas impresiones en las que no se permite fluir libremente el material mientras se va llevando la cubeta a su lugar de asiento, producirán alteraciones del metabolismo celular, que se traducirán en enrojecimientos generalizados de la zona, compatibles con ES Grado II.

La secuencia de una correcta estabilidad protética conlleva a un desplazamiento de la prótesis durante su función. Debe recordarse que una prótesis, técnicamente bien concebida, debe constituir un estímulo a los tejidos de sostén y no una agresión. La inestabilidad y el desplazamiento producen lesiones mucosas como enrojecimiento y ulceración similares a las producidas por los efectos de extensión de la prótesis, por lo que es necesario establecer un diagnóstico diferencial. Posterior a ello se produce un enrojecimiento difuso (ES Grado II) que puede conducir a un incremento de la actividad osteoclástica, provocando la formación de crestas flotantes.

Las causas más frecuentes de inestabilidad guardan una estrecha relación con defecto del registro de las relaciones intermaxilares horizontales, así como inadecuados balances oclusales.



El desgaste de las superficies oclusales ocasionan pérdida de las relaciones horizontales de los maxilares, así como una disminución de la dimensión vertical. La alteración de la relación horizontal provoca aumento de la inestabilidad protética y, con ello, la aparición de la ES, a este fenómeno se le puede asociar Queratitis angular. Debe considerarse el bruxismo como un factor etiológico en la ES.

Es muy frecuente observar la ES asociada a prótesis parciales removibles que presentan diseños incorrectos donde falta el suficiente alivio en las zonas gingivales parodontarias.

Dentro del grupo etiopatogénico denominado trauma protético podemos incluir los hábitos incorrectos de utilización de la prótesis por parte del paciente. El uso continuado de la prótesis puede favorecer la ES por varios motivos. Por una parte va a provocar un incremento de las lesiones locales y, por otro lado, aumenta el tiempo de exposición de la mucosa a la placa de la dentadura. Se ha observado un incremento de la frecuencia y densidad de *Candida albicans* en la superficie de asiento de la prótesis en aquellos pacientes que la utilizan noche y día. Es por ello que muchos investigadores le confieren gran importancia al tiempo de uso diario y recomiendan un receso entre seis y ocho horas al día <sup>(14)</sup>.

#### **2.2.1.4.2. Higiene de la prótesis**

La deficiente higiene ha sido considerada como un factor etiológico importante de la ES. Para algunos estudios la placa bacteriana que se forma en la

superficie interna de la prótesis es, probablemente, la causa de mayor significado en la etiopatogenia de éste proceso.

La formación de la placa bacteriana en la prótesis está facilitada por el acúmulo de residuos debido, no sólo, a una mala higiene, sino también a las limitaciones que en muchas ocasiones ofrece el propio material de base. La porosidad y las irregularidades del relieve de la superficie interna de la prótesis posibilita el acúmulo de placa. En los casos de los pacientes con prótesis parciales removibles la presencia de dientes con caries o trastornos periodontales, pueden agravar la ES.

La temperatura de la boca y la presión negativa en la interfase resina-mucosa permite y facilita la proliferación de microorganismos que estimulan el desencadenamiento de la reacción inflamatoria.

Dentro de este grupo de factores etiopatogénicos relacionados con la prótesis deben incluirse los factores dietéticos. La ingesta elevada de carbohidratos puede ser un factor agravante en la ES, ya que los hidratos de carbono son un excelente caldo de cultivo para la proliferación de los microorganismos en la placa bacteriana.

Diferentes deficiencias nutricionales tales como bajos niveles en Hierro, Acido fólico o Vitamina B12 también han sido considerados como factores predisponentes.

En relación con los factores higiénicos dietéticos no debe olvidarse que muchos pacientes portadores de ES son de edad avanzada y, en ocasiones, su

alimentación es deficitaria, a ello se le suma su habilidad manual disminuida impidiendo una correcta higiene de la prótesis. Todo esto forma un conjunto de fenómenos asociados difíciles de eliminar <sup>(14)</sup>.

#### **2.2.1.4.3. Reacción alérgica**

Existen reportes ocasionales acerca de reacciones alérgicas a los materiales de la base de la prótesis. Una acción irritante a la alta concentración del monómero residual de la base puede explicar cierta reacción de sensibilidad en algunos pacientes. Las repercusiones en los tejidos debido a las propiedades físicas y químicas de los materiales dentales, deben ser atentamente evaluadas por el odontólogo que se dispone a realizar una reconstrucción protésica u otras modalidades terapéuticas en el paciente. De los requisitos que deben poseer los materiales dentales para ser utilizados en individuos, el más importante es la biocompatibilidad. Muchos autores puntualizan que la hipersensibilidad por contacto en la cavidad bucal se manifiesta por la presencia de reacciones esencialmente locales, que consisten en alteraciones de orden histológico e inmunológico.

La estomatitis subprotésica alérgica en la mayoría de los casos está relacionada con el uso de prótesis dentales, en donde la sustancia sensibilizante está representada por el monómero de metacrilato de metilo de la resina que polimeriza en frío; aunque también la sensibilización puede presentarse por prótesis polimerizadas por calor, debido a procedimientos incorrectos que inducen a una insuficiente reacción de radicales del monómero con el polímero

permaneciendo hasta 0,1 a 0,2 % de monómero no neutralizado a nivel de la superficie protésica en estrecho <sup>(8)</sup>.

La alergia de contacto a las resinas de las bases protéticas es un fenómeno de hipersensibilidad Tipo IV y, para su diagnóstico precisa el cumplimiento de criterios como:

- a. La exposición previa al alergen.
- b. Patrones patológicos como enrojecimiento, necrosis o ulceración.
- c. Resolución cuando el alergen es retirado.
- d. Reaparición al exponerse nuevamente el alergen.
- e. El patch test positivo <sup>(14)</sup>.

#### **2.2.1.4.4. Infección candidiásica**

La infección producida por *Candida albicans*, es una de las principales causas de estomatitis subprotésica.

Desde 1936 se ha relacionado la ES con las *Candidas*. Se han realizado múltiples estudios en los que se ha demostrado un significativo aumento en los pacientes que presentan ES con relación a otros sanos así como la activación proteolítica del precursor de la interleuquina 1 beta por lo que ésto sugiere un rol fundamental en la patogenia de la reacción inflamatoria característica de estos procesos. Por otra parte, el importante papel de este agente en la ES viene

también apoyado a la respuesta favorable lograda en muchos pacientes con terapia antifúngica. No obstante, a pesar de reducir el número de levaduras con este tratamiento y la temporal desaparición del eritema y la sintomatología clínica tras la supresión del medicamento se observa una rápida recolonización.

Se han descubierto hasta 18 cepas de *Candida albicans* en la ES siendo el serototipo A el principalmente involucrado. Desde un punto de vista experimental se ha comprobado que la patogenicidad de la *Candida albicans* en la ES es muy elevada, mayor que las cepas involucradas en la candidiasis cutánea. Este conjunto de datos, a nuestro juicio, constituye un importante factor etiológico principalmente en los Grados I y II <sup>(14)</sup>.

#### **2.2.1.4.5. Factores sistémicos predisponentes**

Existe un conjunto de enfermedades sistémicas que disminuyen las defensas del organismo, entre ellas la diabetes, anemias, inmunodeficiencias, alteraciones renales, hipoparatiroidismo, déficit nutritivo (31). Además permanecen otros factores, también predisponentes, como son la antibióticoterapia inadecuada el tratamiento con corticoides o inmunosupresores, ciertos psicofármacos, xerostomía, tabaquismo, y la radioterapia <sup>(14)</sup>.

#### **2.2.1.5. Diagnóstico:**

El diagnóstico de la ES se basa preferentemente en la clínica y el adecuado empleo de los medios auxiliares diagnósticos tales como procedimiento biópsicos, estudios citológicos, exámenes microbiológicos.

Una correcta y completa historia clínica que recoja los antecedentes personales, familiares así como el proceso actual y su sintomatología. Es de suma importancia, anotar cuidadosamente el tipo de prótesis, su estado, la función, su estabilidad, la adaptación marginal, las relaciones, el desgaste, tiempo de utilización de la última prótesis y el total de años que se lleva como portador de prótesis. Debe conocerse, además, el nivel de higiene bucodentaria y protética y la situación del resto de los elementos de la cavidad oral (caries, infecciones, leucoplasias, queilitis) <sup>(14)</sup>.

El diagnóstico de una infección candidiásica en pacientes con estomatitis subprotésica se confirma mediante la toma de muestra y siembra de la misma en un medio de cultivo para observar su crecimiento. <sup>(3) (4) (8) (11)</sup>.

#### **2.2.1.6. Clínica:**

Generalmente la sintomatología puede ser variable o esta ausente. En numerosas ocasiones se descubre el proceso al retirar la prótesis en una exploración rutinaria o al inicio de un tratamiento rehabilitador. Se plantea que entre un 28% y hasta un 70% de los pacientes pueden presentar síntomas, señalándose entre estos, inflamación de la mucosa, sangrado, sensación de quemazón, dolor, mal gusto, halitosis, xerostomía, etc. En algunas ocasiones en pacientes con inestabilidad psíquica y tendencia a posiciones hipocondríacas el motivo fundamental de consulta puede ser la "cancerofobia".

Desde el punto de vista clínico resulta interesante la asociación de la ES con otros procesos orales. La enfermedad que más se asocia es la queilitis

angular candidiásica, alcanzando entre el 33% y 82,6%. De forma poco frecuente se han reportado asociaciones con leucoplasias y cuadros de candidiasis orales pseudomembranosas.

Ha sido poco reportada la asociación entre la ES y carcinomas en el paladar. Se han tratado varios pacientes con carcinomas asociados a lesiones inicialmente provocadas por prótesis, lo que corrobora las consideraciones sobre el complejo proceso secuencial que puede seguir diferentes vías alternativas de desarrollo que involucren como fenómeno intrínseco, la activación de dos o más oncogenes a partir de la acción promotora o cocarcinogénica del aparato protésico sobre poblaciones celulares que hallan sufrido daño inicial en el ADN <sup>(11)</sup>.

#### **2.2.1.7. Tratamiento:**

En todo tratamiento, la eliminación o corrección de los factores etiológicos es de suma importancia. Uno de los grandes problemas en el seguimiento de el ES es el componente psicosocial del paciente afectado, por cuanto es recomendable la suspensión temporal del aparato que se encuentra utilizando para dar comienzo, una vez recuperada la persona, a la confección de una nueva prótesis. Por tal razón se recurren a soluciones alternativas en un intento de eliminar los efectos de adaptación y ajustes de las prótesis empleando acondicionadores de tejidos, los cuales mejoran la adaptación de la prótesis a los relieves, disminuyendo su movilidad y evitando rozamientos y compresiones inadecuadas sobre la mucosa.

Es recomendable el tratamiento previo con esquemas antifúngicos (miconazol, fluconazol), higienización profunda de la prótesis teniendo en cuenta la adhesión de la *C. Albicans* a la superficie acrílica (Ej: ozono), incorporación de agentes antimicóticos al polvo del acondicionador antes de realizar la mezcla con el líquido. Debe recordarse que los acondicionadores se deterioran con mucha facilidad en la cavidad bucal por lo que deben ser sustituidos cada dos o tres días, de no hacerlo así éstos productos se convierten en un reservorio de gérmenes que favorecerán, aún más, la inflamación.

En los casos más graves diagnosticados como Grado III en los cuales predominan los fenómenos fibroproliferativos, el proceso de recuperación del paciente tras la suspensión del uso de la prótesis o el empleo de acondicionadores mucosos, puede no tener éxito. En estos casos resulta imprescindible recurrir a técnicas quirúrgicas para la eliminación de las correspondientes papilas y sus respectivo estudio anatomopatológico. Diferentes procedimientos han sido ensayados, en nuestra experiencia, la técnica más eficaz en tales casos es el empleo de la diatermia quirúrgica selectiva de cada una de las papilas, en un trabajo esmerado y paciente, y la aplicación, en el transcurso de los cinco días sucesivos, de cremas cuyo mecanismo de acción estimule con capacidad regulatoria el crecimiento y la proliferación celular, de modo que el proceso de reparación se desarrolle en un breve postoperatorio, ej.: ungüento hidrófilo/factor de crecimiento epidérmico.



La erradicación de *C. albicans* de los tejidos se ha hecho aproximadamente por 30 años con Nistatina tópica, administrada en suspensión, ungüento o tabletas, por 5 minutos 3 ó 4 veces al día durante dos o tres semanas.

El uso de Ácido Benzoico en solución tiene buenos resultados cuando se desinfecta la superficie de la prótesis y de ésta manera se erradica a *C. Albicans* <sup>(11)</sup>.

### **2.2.2. Hongos**

La Micología es la ciencia que se ocupa del estudio de los hongos, definiéndolos como organismos macroscópicos y microscópicos de distribución universal, dispersos en el aire, superficies terrestres, agua marinas, lacustres y fluviales, desde helados casquetes polares hasta los más áridos desiertos. Éstos están en frecuente contacto para beneficio o perjuicio del hombre, animales y vegetales. Los hongos que se nutren de materia muerta se les conoce como sapróbios y los que requieren de materia viva se les denomina parásitos. Los hongos se dividen en unicelulares o levaduras y hongos filamentosos.

Los hongos se reproducen mediante la formación de esporas de mitosis, en donde él número de cromosomas permanece constante. No existe una conjugación previa de esporulación (asexuales), mientras que las sexuales se originan como resultado de una conjugación, creciendo en yuxtaposición con una colonia de otro tipo. Este género incluye numerosas especies de vida sapróbia, aislándose en el hombre, heces de los animales y frutas <sup>(16)</sup>.

#### **2.2.2.1. Género *Candida***

*Candida spp.* puede observarse como células redondeadas u ovaladas de 3 a 5 micras, Grampositivas y con un metabolismo principalmente aeróbico. Se desarrollan sin dificultad en los medios habituales para hongos, como el Agar-Glucosa Sabouraud, en el que dan lugar a colonias lisas y cremosas de aspecto y olor peculiar (a levadura de pan), que pueden verse a las 24 ó 48 horas de incubación, siendo su temperatura óptima de crecimiento entre 25 y 37 °C.

Estas levaduras pueden encontrarse formando parte de la microbiota normal de la cavidad bucal (lengua, paladar, mucosa bucal), el tubo digestivo (estómago, intestino), la vagina (al menos en 30%) y en el ambiente. Sin embargo, solo algunas especies se pueden aislar con frecuencia de muestras clínicas procedentes de infecciones. *C. albicans* y *C. tropicalis* representan el 80% de los aislamientos, siendo éstas especies las que producen infecciones con mayor frecuencia, mientras que otras especies menos virulentas, como *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. lusitanae*, se han convertido en causa frecuente de Candidiasis viscerales, localizadas o diseminadas, en pacientes sometidos a cirugía cardíaca, cateterización central y en los adictos a drogas por vía parenteral y en individuos inmunosuprimidos.

La estructura antigénica de *Candida spp.* es compleja y heterogénea. La mayor parte de sus antígenos son glucoproteínas. Estas moléculas forman parte de la pared celular, donde el peptidoglicano es, desde el punto de vista cualitativo, lo más importante. Los antígenos procedentes de la membrana plasmática y del citoplasma celular son de naturaleza protéica, igual que algunos productos metabólicos inmunógenos.

Se han descrito más de 100 especies distintas del género *Candida*, todas ellas ampliamente distribuidas en la naturaleza, siendo las más frecuentes las siguientes: *C. albicans* (sinónimos: *C. stellatoidea*, *C. clausenii*, *C. langeronii*), *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. kefir* (sinónimo de *C. pseudotropicalis*), *C. lusitanae*, *C. paratropicalis* ( variante no fermentadora de sacarosa de *C. tropicalis*), *C. viswanathii*, *C. lipolytica*, *C. haemulonii* y *C. Norvegensis* <sup>(11)</sup> <sup>(16)</sup>.

#### **2.2.2.2. *Candida albicans***

##### **2.2.2.2.1. Generalidades:**

*C. albicans* es una levadura grampositiva, que forma pseudohifas. Son organismos aeróbios, capaces de desarrollar pseudofilamentos y producir clamidosporas (tipo de spora asexual). Las pseudohifas son formadas con brotes que se elongan y continúan conectadas, siendo éstas más anchas que las hifas verdaderas, teniendo constricciones en los sitios de unión. Su diámetro varía entre 3-6  $\mu$  de diámetro, de forma oval y paredes delgadas. Se observa brotes con brotes de células hijas y cortas pseudohifas, a veces se observan largas formas con grupos celulares (blastosporas) en las constricciones. Las pseudohifas tan solo se producen en el momento de la invasión a los tejidos, existiendo numerosos estímulos ambientales que desencadenan o bloquean la conversión in vitro de la levadura a hifas, desconociéndose la regulación de la morfogénesis de *C. albicans*. En la actualidad no se ha resuelto la relación entre la producción de hifas y la virulencia. La *C. albicans* da su actividad a la respuesta

inmunomoduladora y de adherencia al tejido. Un estímulo incuestionable es el suero humano ya que en 90 minutos a 37°C, esta comienza a formar hifas; esta reacción se manifiesta por la aparición de un tubo germinal, un apéndice elongado que crece hacia afuera y que tiene aproximadamente la mitad del ancho y el doble de largo de la célula de la levadura.

Es importante la bioenergética de éste género ya que en ese proceso se fermenta glucosa y maltosa produciendo ácido y gas, en especial de la sacarosa y no a la lactosa. Estas fermentaciones de los carbohidratos junto a las características morfológicas distinguen a la *C. albicans* de las otras especies de *Candida*. En investigaciones realizadas por Gabre y cols asocian la interacción de las prostaglandinas y el grado de patogenicidad de la *C. albicans*. Hay varios componentes en el sistema de defensa del huésped para proteger contra una infección por *C. albicans*. Ésta es una barrera tegumentaria intacta, incluyendo la piel y las mucosas, evitando la infección de microorganismos que normalmente forman colonias y que poseen propiedades de adherencia que aún no se comprenden por completo. Al parecer la *C. albicans* y *C. tropicalis*, son las especies más adherentes explicando su patogenicidad, siendo las principales defensas del organismo los leucocitos polimorfonucleares y monocitos, en condiciones habituales es inhibida por las defensas normales del organismo y por otros miembros de la flora microbiana normal. Si este equilibrio se altera, como ocurre en el debilitamiento de las defensas, el microorganismo comienza a proliferar rápidamente y establece una infección conllevando a una respuesta tisular del huésped muy variable. Por lo general estas infecciones producen un

eritema y siendo éste una respuesta a los productos metabólicos del microorganismo. Bersson y cols, comprobó la susceptibilidad de la *C. albicans* con respecto a diferentes ácidos grasos como los saturados de 10 carbonos, el cual causa la más rápida y efectiva desorganización del citoplasma y de la membrana citoplasmática de la célula <sup>(28)</sup>.

#### **2.2.2.2.2. Epidemiología y fisiopatogenia**

El hombre es el reservorio a nivel mundial además de sus huéspedes infectados, aunque existe otro grupo que tienen su último reservorio en el suelo, conociéndoles como saprófitos especializados, ya que no invaden tejido vivo sino que su nutrición parte de material muerto. No hay predilección por el sexo o edad, constituyendo el 25% de las micosis superficiales. Los hongos que por lo general, no inducen enfermedad, aunque esta comprobado que la *C. albicans* y la *C. tropicalis* son virulentos y puede provocar enfermedad cuando es inoculado en animales. Por lo general viven en equilibrio con otros microorganismos en el cuerpo, existiendo como una colonia o comensal saprófito.

Estos microorganismos son comensales normales del ser humano, se encuentran en la piel enferma, a lo largo del tracto gastrointestinal, en la expectoración, en el tracto genital, en la orina, cavidad bucal. Cuando diversos factores alteran este equilibrio como fármacos, trastornos o infecciones por virus como el HIV o una fuente endógena, de esta manera asume el papel de patógeno y puede causar manifestaciones clínicas notorias. Pueden hacerlo en personas que tienen alterados los mecanismos de defensa del organismo. De igual manera

en pacientes severamente inmunosuprimidos siendo impresionantes las tasas de mortalidad y morbilidad de estos pacientes que en su mayoría están hospitalizados. Las enfermedades micóticas no son transmisibles de un paciente a otro, aunque se han reportado casos de transmisión entre compañeros sexuales, a través de las manos de personal de salud y durante el nacimiento donde la infección va desde la vagina a la orofarínge.

La *Candida albicans* es un saprófito considerado oportunista y en condiciones favorables se convierte en patógeno dependiendo del terreno en el huésped. En este caso se relaciona con la formación de una biopelícula que protege al microorganismo, aprovechando la alteración del medio, tornándose patógeno, como son en los casos de tratamientos prolongados con antibióticos, corticoesteroides, en pacientes con terapias de cáncer como radioterapia y citotóxicos, tratamientos prolongados de hormonas sexuales, en embarazos, en pacientes diabéticos insulín dependientes que portan prótesis orales, insuficiencia tiroidea, factores de higiene y de salud general. En pacientes hospitalizados que usan catéteres intravenosos tanto de tratamiento como de nutrición por tiempo prolongado, en pacientes con complicaciones respiratorias como neumonía, bronquitis, neumonitis, y muy rara vez, en la meningitis, endocarditis bacteriana. Es prevalente en pacientes sometidos a cirugías, transplantados, con tratamiento con esteroideos prolongados, infección HIV/SIDA, pacientes con leucemia, linfomas. Frecuentes en niños recién nacidos que no son alimentados con la lactación materna. En pacientes con síndrome de Sjogren y pacientes diagnosticados con Lupus eritematoso sistémico, pacientes con síndrome de

Down. Hay reportes como los estudios realizados y evaluados por Panagakos y cols, en donde certifican que las fuentes de agua que surten la unidad odontológica es frecuente ver colonias de *Candida albicans* en aquellos equipos con poca higiene y mantenimiento. Las infecciones micóticas por *C. albicans* se enfocan en cavidad bucal y es muy poco frecuente que se extienda hacia la faringe y esófago, algunos casos evolucionan hacia una candidiasis mucocutánea crónica. Tan sólo se puede establecer que este tipo de patología es localizada y benigna asociada con las alteraciones poliendocrinas y defectos de mecanismos inmunitarios.

En el caso de pacientes adultos es más frecuente verla en portadores de prótesis mal adaptadas y de higiene precaria, comisuras labiales por pérdida de la dimensión vertical. Se han reportado casos de la presencia de *Candida albicans* en pacientes con patologías pulpares. Existen estudios realizados acerca de la presencia e incidencia de *Candida albicans* en pacientes con tratamiento ortodóntico, en el cepillo dental y aquellos casos relacionados entre la infección por *Candida* y el Síndrome de boca ardiente <sup>(28)</sup>.

#### **2.2.2.2.3. Patogénesis y factores de virulencia**

Es preciso señalar que todavía existe cierta controversia sobre el papel que juegan las blastosporas y las formas miceliales de *C. albicans*, así como las transiciones entre las dos formas de este hongo. Se ha sugerido que la transformación de blastospora (levadura) a micelio, es sinónimo de cambio del estado de comensalismo al de parasitismo.

Comúnmente se ha afirmado de que las formas filamentosas (miceliales) de *C. albicans* son más virulentas que las formas de levadura de este hongo. Muestras obtenidas de tejidos infectados en humanos y en animales contienen casi siempre hifas, pseudohifas y levaduras. También se ha podido considerar que el tubo germinal, el cual constituye el comienzo de la formación de las hifas de *C. albicans* es mucho más "pegajoso o viscoso", por lo que su capacidad de adherencia es mayor que el de las células con forma de levadura. Los tubos germinales pueden penetrar a los tejidos subyacentes a través del propio tubo, tal y como ocurre en el endotelio vascular, a donde penetran frecuentemente.

Existen claras evidencias en relación con la adherencia de *C. albicans* a la superficie de la mucosa bucal y al acrílico de las dentaduras. Los mecanismos de adherencia de *Candida* difieren, ya que cuando la unión es hacia las superficies inertes, se realiza a través de fuerzas hidrofóbicas y electrostáticas, en tanto que en la unión de *Candida* hacia la mucosa bucal intervienen una serie de sistemas de reconocimiento (receptores-ligandos) específicos.

Posiblemente, uno de los eventos críticos en la patogénesis de las infecciones producidas por *Candida* es la capacidad de estos hongos oportunistas, especialmente *C. albicans* de cambiar del estado hidrofílico de su superficie celular al estado hidrofóbico. Dicho cambio está relacionado con la patogenicidad y por lo tanto, se ha pensado que las células hidrofóbicas son más virulentas y se adhieren con más facilidad a las células epiteliales y a las superficies plásticas inertes que las células hidrofílicas.



Se ha demostrado que otros factores dentro del medio ambiente bucal, tales como saliva, pH, presencia de bacterias y formación de hifas, influyen en la adherencia de *Candida* a diversas superficies de la cavidad bucal.

La producción de factores de virulencia por parte de especies de *Candida* puede variar de acuerdo con el lugar y el grado de invasión, así como por la naturaleza de la respuesta del hospedero.

Los factores de virulencia de *C. albicans* han sido ampliamente estudiados. Estos se enumeran a continuación (Cuadro N° 1) <sup>(29)</sup>.

Cuadro N° 1:

Factores de virulencia de *C. albicans*.

Mecanismos	Factores moleculares
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adherencia</li> <li>- Dimorfismo</li> <li>- Interferencia con: <ul style="list-style-type: none"> <li>Fagocitosis</li> <li>Defensas inmunes</li> <li>Complemento</li> </ul> </li> <li>- Sinergismo con Bacterias y otras levaduras.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enzimas extracelulares: <ul style="list-style-type: none"> <li>Proteasas</li> <li>Lipasas</li> </ul> </li> <li>- Toxinas</li> <li>- Nitrosaminas</li> <li>- Metabolitos ácidos</li> </ul>

El paso a parasitismo de *C. albicans* parece no estar ligado solamente al aumento de la densidad y a la aparición de filamentos; los glicanos, principales componentes de la pared celular, parecen igualmente intervenir modificando su

morfología. La colonización y la infección candidiásica empieza obligatoriamente como aquellas que han sido demostradas por las bacterias, por una adherencia a las células epiteliales de la superficie.

Así como la presencia sobre la membrana citoplasmática de receptores específicos serían necesarios para la fijación y penetración intracelular del hongo, el nombre de estos receptores parece estar determinado genéticamente. La adherencia de *C. albicans* es superior a la de las otras especies de *Candida* y es aumentada por la existencia de una lesión epitelial, por los carbohidratos y por la disminución de la flora bacteriana saprófita. Es de esta manera sin duda que todos los productos (antibióticos, enjuagues bucales, antisépticos) que modifican la flora bacteriana favorecen a la candidiasis bucal.

La pared celular de *C. albicans* es esencial para su patogenicidad desde el momento en que ésta, es requerida para su crecimiento, además de que le da rigidez y protección a esta especie y es el lugar de contacto entre la superficie del microorganismo y el medio ambiente. Diversos ligandos y receptores de la superficie celular de *C. albicans* promueven la colonización a los tejidos y a las células hospedadoras. Una enzima proteolítica, la Proteinasa Acido-Carboxílica asociada con la superficie celular y con el medio ambiente externo, es probablemente la responsable de la invasión de *C. albicans* a los tejidos, la cual ocurre cuando el microorganismo sufre una transformación morfológica de levadura a forma filamentosa.

Está claramente establecido que esta conversión morfológica tiene gran importancia en el establecimiento del proceso infeccioso por parte de este hongo

## **Adherencia de *Candida albicans* a los tejidos bucales**

La adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales bucales ha sido estudiada desde hace tiempo. En un estudio realizado por King y colaboradores donde compararon la capacidad de adherencia de varias especies de *Candida* a células epiteliales bucales y vaginales, comprobaron que *C. albicans* se adhiere en mayor grado a la superficie de estas células que las otras especies. Este estudio reveló además que las otras especies de *Candida* difieren marcadamente en su habilidad por adherirse a las células epiteliales de la mucosa bucal y vaginal. *C. tropicalis* se adhiere moderadamente, mientras que *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kruzei* y *C. pseudotropicalis* (kefyr) mostraron poca capacidad para adherirse a dichas células.

Se ha podido demostrar que, la adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales bucales humanas luego de 2 horas, fue significativamente mayor en presencia de saliva humana que en solución salina buffer-fosfato, y ésta, fue mayor a 37°C que a 25°C. Asimismo, el incremento de la capacidad de adherencia de *C. albicans* en presencia de saliva, parece estar asociada con la germinación de las levaduras. De allí que de acuerdo con los hallazgos de esta investigación, *C. albicans* se adhiere mejor a las células epiteliales bucales humanas si el tubo germinal está presente <sup>(29)</sup>.

Por su parte, Calderone y Braun hacen referencia en relación con la continuidad de algunas investigaciones con la finalidad de identificar diversos compuestos que permiten la unión de este hongo con células epiteliales, plaquetas de fibrina, células endoteliales y materiales plásticos. Algunas generalidades han surgido como consecuencia de estos estudios, a saber:

- 1) Existe una cierta jerarquía entre las distintas especies del Género *Candida* con respecto a las especies más virulentas como son *C. albicans* y *C. tropicalis*, las cuales se adhieren a las células hospederas in vitro en mayor grado que aquellas especies relativamente poco virulentas como *C. krusei* y *C. guilliermondi*.
- 2) El medio donde ocurre el crecimiento, afecta profundamente la extensión de la adherencia in vitro de *C. albicans* tanto a las células epiteliales como a las superficies plásticas.
- 3) Aquellas cepas que reducen su habilidad para adherirse a diversas células in vitro también reducen su habilidad para causar infección in vivo en modelos animales.
- 4) El aumento de la adherencia in vitro está directamente relacionado con el aumento de la síntesis de una capa fibrilar que en cierto modo es comparable con las adhesinas de las fimbrias bacterianas.
- 5) Las formas filamentosas del hongo se adhieren en mayor grado a diversos sustratos que las formas de levadura.
- 6) Existen evidencias suficientes como para puntualizar que la adhesina principal de *C. albicans* es una manoproteína que conforma una capa de fibrillas (dicha capa está constituida aproximadamente por 85% de carbohidratos, principalmente manosa), y cuya síntesis se incrementa en medios que contienen altas concentraciones de galactosa o sacarosa a 37° C <sup>(30)</sup>.

También señalan estos autores que la agregación de microorganismos mediada por glicoproteínas puede aumentar su capacidad de adherirse a los tejidos bucales. Una de estas glicoproteínas proveniente de la pared celular de *C. albicans*, permite la unión de esta especie al colágeno Tipo I.

Refieren además estos mismos autores que *C. albicans* posee una adhesina de naturaleza proteica denominada iC3b, que permite la adherencia del hongo al fragmento del complemento iC3b que cubre los eritrocitos. Otra manera de como *C. albicans* puede adherirse a las células epiteliales es a través de la fibronectina. La fibronectina es una glicoproteína que se encuentra en el plasma sanguíneo y en el tejido intersticial y a la cual se adhieren gran cantidad de microorganismos. Desde hace tiempo se tiene conocimiento que *Candida* tiene afinidad por la fibronectina.

En un estudio reciente, se destaca el hecho de que *C. albicans* posee dos receptores con alta y baja afinidad para fibronectina. Estos receptores pueden funcionar como adhesinas que permiten la unión de la fibronectina del plasma sanguíneo, así como de los péptidos derivados de la fibronectina.

Está claramente demostrado que de las enzimas extracelulares sintetizadas por *C. albicans*, las proteinasas ácidas son las más conocidas que cumplen funciones como adhesinas. Estas enzimas han sido identificadas en diversos tejidos infectados por el hongo y constituyen como tal, un importante factor de virulencia del mismo. Las proteinasas ácidas han sido localizadas en la capa más externa de la pared celular de *C. albicans* a través del microscopio inmunoeléctrico, se activan en zonas donde hay valores bajos de pH y son inhibidas por la pepstatina.

Se ha comprobado que células de levadura de *C. albicans* adheridas al acrílico de las prótesis dentales, crecen en mayor grado en medios suplementados con altas concentraciones de glucosa, galactosa, sacarosa o maltosa que en medios con bajas concentraciones de glucosa. Esta observación tiene gran

relevancia, si se toma en consideración el hecho de que las dietas ricas en carbohidratos predispone a los individuos a infecciones por *Candida* en cavidad bucal. También se ha podido comprobar que *C. albicans* posee una mayor virulencia cuando crece en medios que contienen galactosa que cuando crece en medios que contienen glucosa.

En otro trabajo reciente, se ha demostrado que después que ocurre la adherencia de *C. albicans* a los tejidos, este microorganismo sintetiza nuevas proteínas de superficie, las cuales van acompañadas por la fosforilación de la tirosina de algunas de estas.

Además de las uniones específicas "célula-célula", otro aspecto importante en la patogenicidad de *C. albicans* puede ser su afinidad no específica para unirse a las resinas acrílicas y a otros componentes plásticos <sup>(29)</sup>.

### **Adherencia de *Candida albicans* al acrílico de las prótesis dentales**

La capacidad de *C. albicans* de adherirse y colonizar la superficie de acrílico de las dentaduras, es un factor importante en la patogénesis de la estomatitis subprotésica. Sin embargo, estudios de microscopía electrónica y de cultivos han demostrado que la placa dental que se forma tanto en pacientes sanos como en pacientes con alteraciones patológicas está conformada por grandes cantidades de bacterias. Éstas, en conjunto con *C. albicans* juegan un papel importante en la etiología de la ES. Por otra parte, se ha afirmado que la adherencia por parte de *Candida* a la superficie de acrílico de las dentaduras, constituye el primer paso en la patogénesis de la ES asociada a este hongo.

Se ha podido demostrar que los tubos germinales de *C. albicans* producen en su superficie una capa adicional de fibrillas, la cual es responsable del incremento de la adherencia de este microorganismo a las superficies plásticas <sup>(29)</sup>.

En un estudio realizado "in vitro", se ha demostrado que la adherencia de *C. albicans* a la superficie de acrílico de las prótesis dentales, puede llevarse a cabo mediante interacciones célula-célula con *Streptococcus mutans* en presencia de glucosa y sacarosa, observándose una coagregación entre ambas especies a través del microscopio electrónico de barrido en presencia de sacarosa. No se observó coagregación entre ambos microorganismos en presencia de glucosa <sup>(31)</sup>.

Cabe destacar además, que la adhesión de *C. albicans* a la superficie de acrílico no fue interrumpida por la presencia de la Glucosil-transferasa sintetizada por *S. mutans*

En un estudio realizado por Vasilas y colaboradores, se comprobó que la saliva completa estimulada que cubre la superficie de acrílico de las dentaduras, incrementaba significativamente la capacidad de adherencia por parte de una cepa de *C. albicans* (613p) sobre la misma, en comparación con la capacidad de adherencia al acrílico por parte de esta cepa sin la presencia de saliva. Adicionalmente, una capa de saliva proveniente de las glándulas parótidas incrementaba significativamente la unión de la cepa antes mencionada sobre el acrílico de las dentaduras, al compararla con saliva proveniente de las glándulas submandibulares y sublinguales.

Recientemente, Radford y colaboradores, realizaron un estudio "in vitro" para determinar la adherencia de *C. albicans* a diversas superficies de los materiales de base de las dentaduras, así como para observar el efecto de la

película salival en la adherencia del hongo a estas superficies. Los resultados de este estudio demostraron que, *C. albicans* se adhiere en mayor grado a las superficies rugosas que a las superficies lisas de los materiales de base de las dentaduras. Sin embargo, contrario a otros investigadores demostraron que la presencia de la saliva reduce la capacidad por parte de este microorganismo de adherirse a dichas superficies.

Se ha podido demostrar "in vitro" que, la capacidad de adherencia por parte de *C. albicans* sobre la superficie de acrílico de las prótesis dentales, disminuía significativamente en presencia de *Porphyromonas gingivalis*.

Otras investigaciones han revelado que las levaduras de *C. albicans* que crecen en medios líquidos que contienen galactosa, sacarosa o glucosa producen un material denominado polímero extracelular (P.E.). Las levaduras que crecen en medios que contienen galactosa, producen mayores cantidades de P.E. que las que crecen en medios que contienen sacarosa o glucosa. Este polímero está compuesto aproximadamente por 65 a 82% de carbohidratos (principalmente manosa), 7% de proteínas, 0,5% de fósforo y 1,5% de glucosamina.

También se ha comprobado que el P.E. sintetizado por levaduras de *C. albicans* aumenta la habilidad de estas de adherirse al acrílico de las prótesis dentales, incrementándose aún más esta actividad en la cavidad bucal en presencia de carbohidratos.

Por otra parte, la capacidad que poseen ciertas enzimas de remover a *C. albicans* de la superficie de acrílico de las dentaduras, fue evaluada por Tamamoto y colaboradores. Estos investigadores comprobaron que las enzimas que producen lisis de las levaduras, como Glucanasa  $\beta$ -1,3 (Zimolasa) y las enzimas



proteolíticas como Pronasa P, Alcalasa, Esperasa y Papaína, removían a *C. albicans* con efectividad de la superficie de las dentaduras, en tanto que enzimas como Amilasa (Glucanasa a -1,4), Dextranasa (Glucanasa a -1,6) y Glucosidasa no eran capaces de remover al hongo. Los resultados del estudio permiten sugerir, de acuerdo a lo expresado por estos investigadores que, *C. albicans* se une a la superficie de acrílico de las dentaduras a través de proteínas, contrario a lo expresado por Mc Courtie y Douglas<sup>23</sup> y Samaranayake y Mac Fairlane, quienes afirman que la unión de este microorganismo a la superficie acrílica de las dentaduras es a través de carbohidratos <sup>(29)</sup>.

### **Efecto de los materiales acondicionadores de tejidos sobre *Candida albicans*.**

Se ha demostrado que la capacidad de adherencia de *C. albicans* a la superficie de los materiales acondicionadores de tejido colocados en las prótesis dentales, era menor que su capacidad de adherirse a la superficie de acrílico de las mismas. Se ha sugerido que entre las posibles causas que generan la disminución de la adherencia sobre la superficie de los materiales acondicionadores de tejido están: el tipo de material en sí, variaciones que se susciten en la superficie celular de *C. albicans*, así como la cantidad y tipo de saliva presente en la cavidad bucal.

No obstante, se ha sugerido recientemente que el cambio que se produce en los materiales acondicionadores de tejido debido a la acción del tiempo, en conjunto con los fluidos biológicos del hospedero, particularmente suero, promueven el crecimiento de levaduras de *C. albicans* sobre los mismos.

También se ha demostrado en otro estudio de data reciente que el ácido undecilénico, incorporado a los materiales acondicionadores de tejidos empleados frecuentemente en el tratamiento de la ES, inhibe la transformación de *C. albicans* de la forma de levadura a la forma de hifa, lo cual resulta muy importante <sup>(29)</sup>.

### **Inhibición de la adherencia de *Candida albicans* sobre los tejidos bucales y sobre la superficie de acrílico de las prótesis dentales.**

Se está investigando insistentemente en la búsqueda de diversos agentes que permitan bloquear el proceso de adherencia de *C. albicans* a los tejidos y a la superficie de acrílico de las prótesis dentales, con la posibilidad de que se origine una infección. Entre algunos de estos agentes se encuentran la Quitina (N-Acetil Glucosamina)<sup>43</sup> y la Pepstatina que actúa como inhibidor enzimático, probablemente de la proteinasa Ácido Carboxílico asociada con la superficie celular.

Por otra parte, se ha demostrado que luego de la exposición "in vitro" de células epiteliales de la cavidad bucal con Gluconato de Clorhexidina por 1 minuto, así como con enjuagues bucales "in vivo", se reduce significativamente la capacidad de adherencia de *Candida* a estas células, tanto en pacientes diabéticos como en pacientes no diabéticos.

También se ha demostrado recientemente que, la exposición de *C. albicans* ante diversos agentes antimicóticos tales como Nistatina, Anfotericina B, 5-Fluorocitosina, Ketoconazol y Fluconazol por 1 hora, reduce significativamente la capacidad de adherencia por parte de esta especie a las superficies de acrílico de las prótesis dentales <sup>(29)</sup>.

### **Otros compuestos que intervienen en la virulencia por parte de *Candida albicans*.**

Es importante destacar que las hifas y pseudohifas de *C. albicans* están cubiertas con anticuerpos sensibilizados de eritrocitos de carnero conjugados con el producto de conversión de la fracción C3 del complemento, denominado C3d. Las levaduras también están cubiertas con este producto, pero la expresión como tal es menor.

Se ha podido aislar una proteína unida a la fracción C3d del complemento que actúa como receptor-ligando de *C. albicans*, la cual está compuesta por diversos aminoácidos, siendo los predominantes Glicina y Glutamina-Acido Glutámico. Esta actividad por parte de la mencionada especie de ligar componentes del complemento a su superficie, permite inactivar la cascada del complemento. Además señalan que esta proteína juega un papel importante en la virulencia del microorganismo.

Otros receptores-ligandos que se han identificado en *C. albicans* son proteínas unidas a la fibronectina, al fibrinógeno y a la laminina.

Se han identificado diversos receptores para *C. albicans* que se encuentran en la superficie de las células epiteliales de la cavidad bucal. Estos receptores son glicoproteínas y reconocen las lectinas que se ubican en la superficie del hongo.

La actividad proteolítica extracelular por parte de la Aspartil-Proteinasa y su asociación con la virulencia de *C. albicans* ha sido verificada por algunos investigadores. Sugieren estos mismos investigadores que la enzima puede tener función proteolítica, favoreciendo la capacidad del microorganismo de colonizar los tejidos del hospedero y por lo tanto su destrucción.

Se ha estudiado el papel que juega la Aspartil-Proteinasa sintetizada por *C. albicans* en la invasión del epitelio bucal en humanos. Las blastosporas del hongo se adhieren al epitelio y por espacio de 4 horas pueden observarse los tubos germinales penetrando la superficie del mismo, manifestándose en ese período de tiempo la actividad proteolítica de la enzima sobre el tejido invadido, ya que ésta se localiza en la superficie de las blastosporas y de los tubos germinales del microorganismo.

La actividad proteolítica de la Aspartil-Proteinasa sobre las células epiteliales invadidas por *C. albicans* puede ser inhibida por la Proteinasa inhibidora de la Pepstatina. Esta proteinasa también puede inhibir el crecimiento del hongo.

Otras especies pertenecientes al Género *Candida*, incluyendo *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* sintetizan proteinasas. La proteinasa producida por *C. tropicalis* es similar a la producida por *C. albicans* y se sintetizan durante la infección a los fagocitos, en cambio, la producida por *C. parapsilosis* tiene un peso molecular ligeramente menor y no se sintetiza cuando ocurre dicha infección. Por lo tanto, la carencia de la producción de la enzima por parte de *C. parapsilosis* puede estar relacionada con la reducción de su capacidad de virulencia.

Se ha reportado la producción de coagulasa por parte de *C. albicans*. Posteriormente se demostró que la collagenasa producida por esta especie, hidrolizaba y degradaba las fibras de colágeno de la dentina. *C. albicans* también sintetiza Fosfolipasa (que hidroliza fosfoglicéridos) y Lisofosfolipasa (que hidroliza lisofosfoglicéridos). Existen varios tipos de Fosfolipasa (A,B y C) y ya ha sido reportada la presencia de Lisofosfolipasa Transacilasa en esta especie. Estas enzimas al ser hidrolíticas, permiten destruir o alterar componentes de la

membrana celular, trayendo como consecuencia la disfunción de la misma. Debido a que las membranas celulares están constituidas principalmente por lípidos y proteínas, se concluye que estos elementos, se constituyen en blancos de ataque de estas enzimas.

Se le ha atribuido relativa importancia a la presencia de fosfolipasa y lisofosfolipasa en *Candida*. Por una parte, ellas están relacionadas con el control del crecimiento de la levadura y remodelado de la membrana celular parasitada; por otra parte, estas enzimas se relacionan con el mecanismo de invasión tisular del huésped. Se ha sugerido que la contribución más importante radica en la relación de estas enzimas con la patogenicidad, más que con el control del crecimiento.

Se ha reportado que los ácidos producidos por *C. albicans* son: Acetato, Piruvato, Formato y Propionato, los cuales contribuyen a la citotoxicidad directa por parte de esta especie.

Por otra parte, es bien conocido el hecho de que la disminución de pH causada por los ácidos producidos por *Candida*, activa las proteinasas ácidas, fosfolipasas y colagenasas, las cuales provocan daño tisular y subsecuente invasión a los tejidos por parte del hongo, además de facilitar su adherencia a los mismos. Más recientemente, se ha demostrado la actividad de secreción de proteinasas ácidas por parte de *C. albicans*, siendo ésta, un factor importante en la patogénesis de la ES.

Las enzimas extracelulares sintetizadas por *C. albicans*, en conjunto con toxinas extracelulares similares a glicoproteínas y la presencia de diversos metabolitos ácidos pueden contribuir también a la inhibición de la fagocitosis, del

complemento y del sistema inmune. *C. albicans* puede sintetizar nitrosaminas a partir de la saliva, las cuales pueden tener importancia en la Candidiasis Crónica Hiperplásica, ya que son conocidas como cancerígenos.

Asimismo, los micelios de *C. albicans* pueden en ciertas ocasiones penetrar los tejidos bucales, pero solamente penetran las dos capas superficiales del epitelio (la capa de queratina y la capa granular), y jamás penetran el espesor completo del mismo. Se dice que esta penetración puede ser con la finalidad de obtener nutrientes o bien para evitar que los micelios sean removidos debido a la descamación de las células epiteliales.

Aún cuando se sabe que la penetración de las hifas de *Candida* en la superficie de las células epiteliales bucales, vaginales y de la epidermis de la piel constituye como tal el hallazgo histopatológico más usual y consistente en las infecciones superficiales producidas por este microorganismo, experimentos realizados anteriormente por Ray y Payne, indicaron que la formación de hifas no es una propiedad obligatoria para la invasión celular por parte de *C. albicans*.

Experimentos recientes realizados "in vitro", han revelado que las hifas de *C. albicans* tienen la propiedad de sensibilidad por contacto o tigmotropismo. En cortes histopatológicos de tejidos infectados por esta especie, lo más frecuentemente observado es que las hifas se encuentren distribuidas al azar. Sin embargo, algunas veces en la capa de queratina del epitelio bucal, las hifas están distribuidas en patrones bien sea a lo largo o perpendiculares al estrato de queratinocitos, aunque dichos patrones no son consistentes como el de algunas especies de hongos (plantas) patógenos que siempre crecen en planos paralelos o perpendiculares a los límites de las células hospederas <sup>(29)</sup>.

#### **2.2.2.2.4. Identificación**

*Candida albicans* crece en Agar- Dextrosa Sabouraud, formando colonias redondas, elevadas blanco - cremosas a 37°C por 48 horas. Existen varias pruebas específicas para identificar a *C. albicans*:

- Prueba del tubo germinal o filamentación precoz, la cual consiste en incubar la levadura en suero a 37°C durante 2 horas. Sólo *C. albicans* formará un brote del micelio (tubo germinal) en este período de tiempo.
- La formación de clamidosporas en presencia de medios de cultivo conteniendo Agar - Harina de maíz o Agar - Arroz con Tween 80. En esta prueba, se observa el desarrollo de un micelio verdadero a lo largo del cual aparecen esporas redondeadas de pared gruesa, lisa, refringente; siendo su presencia muy sugestiva de *C. albicans*.
- Sistemas para estudios metabólicos como API20C, Vitek, Microscam, ID32C, permiten identificar las levaduras de una forma más precisa y sencilla que los métodos convencionales <sup>(3) (4) (11) (12) (13)</sup>.

##### **2.2.2.2.4.1. API Candida**

Es un sistema estandarizado para la identificación de levaduras en 18-24 horas, especialmente las que se encuentran más frecuentemente en microbiología clínica.

La galería API Candida se compone de 10 microtubos que contienen substratos deshidratados, para realizar 12 tests de identificación (acidificación de azúcares o reacciones enzimáticas). Las reacciones que se producen durante la

incubación se traducen en cambios espontáneos de color. La lectura de las reacciones se hace con la ayuda de la Tabla de Lectura y la identificación, se obtiene consultando la lista de perfiles de ficha técnica <sup>(32)</sup>.

### **Modo de Empleo**

**Selección de las colonias:** Verificar mediante un examen microscópico que la cepa estudiada sea efectivamente una levadura. Los siguientes medios pueden ser utilizados para aislar las colonias antes de utilizar la galería API Candida:

- agar Sabouraud 2 (con o sin antibiótico),
- agar Albicans ID 2,
- agar con sangre,
- si se utilizan otros medios para el aislamiento, realizar un subcultivo en uno de los medios antes mencionados.

### **Preparación de la galería:**

- Reunir fondo y tapa de la cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 ml de agua destilada o desmineralizada (o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles de liberar gases (Ej: Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, etc.) en los alveólos para crear una atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara.
- Sacar la galería de su envase individual.
- Colocar la galería en la cámara de incubación.
- Desechar la bolsa deshidratante.



### **Preparación del inóculo:**

- Abrir una ampolla de API NaCl 0.85% Medium (2 ml).
- Con una pipeta o escobillón, tomar una muestra de una o varias colonias idénticas, bien aisladas y realizar una suspensión de turbidez igual a la del patrón 3 de la escala de McFarland: comparar con un control de turbidez o con un densitómetro. Utilizar preferentemente cultivos jóvenes (18-24 horas).
- Homogeneizar bien la suspensión de levaduras. Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.

### **Inoculación de la galería:**

- Repartir la suspensión anterior de levaduras sólo en los tubos, evitando la formación de burbujas (para ello, inclinar la cámara de incubación hacia adelante y colocar la pipeta o la PSipette en el lado de la cúpula)
- Recubrir los 5 primeros tests (GLU a RAF) y el último test (URE) con aceite de parafina (tests subrayados) inmediatamente después de inocular la galería.

**Nota:** La calidad del llenado es muy importante. Los tubos insuficiente o excesivamente llenos pueden ser la fuente de resultados falsamente positivos o falsamente negativos.

- Cerrar la cámara de incubación.
- Incubar 18-24 horas a 36°C □ 2°C **en atmósfera aerobia**.

### **Lectura e interpretación**

#### **Lectura de la galería**

Después de 18-24 horas de incubación:

- Leer las reacciones remitiéndose a la Tabla de Lectura de la ficha técnica, y anotarlas en forma de + ó – en la hoja de resultados.

**Atención:** Los tubos 8 y 9 son bifuncionales y permiten la realización de 2 reacciones en el mismo tubo:

- tubo 8:  $\beta$ XYL (test nº 8) /  $\beta$ NAG (test nº11)
- tubo 9:  $\beta$ GUR (test nº 9) /  $\beta$ GAL (test nº12)

### *Interpretación*

- Codificar las reacciones obtenidas en un **perfil numérico**: en la hoja de resultados en grupos de tres y se asigna para cada uno un valor 1, 2 ó 4. Sumando al interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 4 cifras que constituyen el perfil numérico.

- Identificación:

Se realiza a partir de la base de datos

- Con la ayuda de un perfil numérico: localizar el perfil en la lista de la ficha técnica.
- Por medio del software de identificación **apiweb** <sup>TM</sup> : Introducir manualmente por teclado el perfil de 4 cifras.
- En caso de discriminación débil entre varias especies, se recomienda realizar test complementarios para distinguirlos.

### *Límites del ensayo*

- El sistema API Candida está destinado únicamente a la identificación de las especies de la base de datos, es decir, que pertenezcan a los géneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Geotrichum*, *Saccharomyces* y *Trichosporon*, y sólo y exclusivamente a éstos. No puede utilizarse para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia.
- Sólo se deben utilizar los cultivos puros que contengan un solo tipo de microorganismo.

### *Rendimientos*

Han sido ensayadas 646 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:

- 97.99% de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin ensayos complementarios)
- 1.55% de las cepas se han identificado incorrectamente.

### **Eliminación de los residuos**

Los reactivos no utilizados pueden eliminarse como los residuos no peligrosos.

Eliminar los reactivos utilizados, así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relacionados con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los residuos y efluentes que produce, según la naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación según las reglamentaciones aplicables <sup>(32)</sup>.

## TABLA DE LECTURA

TESTS	COMPONENTES ACTIVOS	QTE (mg/cúp)	REACCIONES	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
1) <u>GLU</u>	D-glucosa	1,4	Acidificación (GLUcosa)	Violeta	amarillo
2) <u>GAL</u>	D-galactosa	1,4	Acidificación (GALactosa)	gris violeta	Verde / gris
3) <u>SAC</u>	D-sacarosa	1,4	Acidificación (SACarosa)		
4) <u>TRE</u>	D-trehalosa	1,4	Acidificación (TREhalosa)		
5) <u>RAF</u>	D-rafinosa	1,4	Acidificación (RAFinosa)		
6) $\beta$ MAL	4-nitrofenil- $\beta$ D-maltotriosida	0,08	$\beta$ -MALtosidasa	incoloro	Amarillo pálido- amarillo intenso
7) $\alpha$ AMY	2-cloro-4-nitrofenil- $\alpha$ Dmaltotriosida	0,168	$\alpha$ -AMIlasa	Incoloro	Amarillo pálido- amarillo intenso
8) $\beta$ XYL	4-nitrofenil- $\beta$ D-xilopiranosida	0,095	$\beta$ -XILosidasa	Incoloro- amarillo muy pálido / azul / verde **	Amarillo pálido- amarillo intenso

9) $\beta$ GUR	4-nitrofenil- $\beta$ D-glucuronida	0,063	$\beta$ -GLUCuRONidasa	Incoloro / azul / verde	Amarillo pálido-amarillo intenso
10) <u>URE</u>	Urea	1,68	UREasa	Amarillo-naranja pálido	Rojo
11) $\beta$ NAG (en tubo n°8) *	5-bromo-4-cloro-3-indoxil-N-acetil- $\beta$ D-glucosaminida	0,09	N-Acetil-beta-Glucosaminidasa	Incoloro / amarillo	Azul / verde **
12) $\beta$ GAL (en tubo n°9) *	5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ D-galactopiranosida	0,0815	$\beta$ -GALactosidasa	Incoloro / amarillo	Azul / verde

\* los tubos 8 y 9 son bifuncionales: tubo 8:  $\beta$ XYL (test n° 8) /  $\beta$ NAG (test n°11)  
tubo 9:  $\beta$ GUR (test n° 9) /  $\beta$ GAL (test n°12)

\*\* Cualquier coloración verde en la cúpula 8 =  $\beta$ XYL (-)  $\beta$ NAG (+)

(32)

### 2.2.2.3. Enfermedades micóticas

Se define como la infección causada por hongos.

#### 2.2.2.3.1. Clasificación:

Las enfermedades micóticas se dividen en cuatro grupos bien definidos:

- Micosis superficiales
- Micosis cutáneas
- Micosis subcutáneas
- Micosis sistémicas (Cuadro N° 2)

Teniendo evolución aguda, subaguda o crónica. La morfología está sensiblemente afectada por el tipo de medio en el que crece el microorganismo.

Estos deben de poseer los requerimientos nutritivos especiales, en especial en la presencia de carbohidratos.

Cuadro N° 2: Clasificación de micosis

TIPO	ENFERMEDAD	MICROORGANISMO CAUSAL
<b>INFECCIONES SUPERFICIALES</b>	Pitiriasis versicolor Piedra	<i>Malasezia furfur</i> <i>Trichosporum beigeii</i> (blanca) <i>Piedraia hortai</i> (negra)
<b>INFECCIONES CUTÁNEAS</b>	Tiña del cuero cabelludo, piel sin vello y uñas Candidiasis de la piel, membranas, mucosa y uñas.	Dermatofitos ( <i>Microsporum sp.</i> , <i>Trichophyton sp.</i> , <i>Epidermophyton sp.</i> ) <b><i>Candida albicans</i></b> y especies relacionadas.
<b>INFECCIONES SUBCUTÁNEAS</b>	Cromoblastomicosis Micetoma micótico	<i>Fonsecea pedrosoi</i> y formas relacionadas.

	Entomoftromicosis	<i>Pseudalleschia boydii</i> , <i>Madurella</i>
	Rinosporidiosis	<i>mycetomatis</i> .
	Lobomicosis	<i>Basidiobolus ranarum</i>
	Esporotricosis	<i>Conidiobolus coronatus</i> .
		<i>Rhinosporidium seeberi</i>
		<i>Loboa lobo</i> .
		<i>Sporothrix schenckii</i>
<b>INFECCIONES SISTÉMICAS</b>	<b>Infecciones por hongos patógenos.</b>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
		<i>Blastomyces dermatitidis</i>
	Histoplasmosis	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
	Blastomicosis	<i>Coccidioides immitis</i>
	Paracoccidioidomicosis	<i>Cryptococcus neoformans</i>
	Coccidioidomicosis	<i>Aspergillus fumigatus</i> .
	<b>Infecciones por hongos oportunistas</b>	<i>Mucor sp</i> , <i>Absidia sp.</i> , <i>Rhizopus sp</i>
		<i>Candida albicans</i> .
	Criptococosis	
	Arpergilosis	
	Mucormicosis	
	Candidiasis sistémica	

Las micosis superficiales y cutáneas son las más comunes y están causadas en su mayoría por un grupo de hongos denominados dermatofitos. La *Candida albicans* y las infecciones por dermatofitos están clasificadas entre las infecciones de Micosis superficiales, ya que están limitadas a las capas superficiales de la piel incluyendo el estrato córneo y de las mucosas, con muy poca o ninguna invasión de las células vivas. Entre éstos se encuentran las diversas formas de la tiña, que son infecciones del pelo y del folículo piloso, infecciones superficiales de las zonas lisas o restringidas de la piel no vellosa (mucosa bucal), onicomycosis (infecciones de las uñas de las manos y de los pies). En la mayoría de los casos, éstas son lesiones benignas, superficiales y

restringidas. Este tipo de infecciones en su totalidad no es mortal, aunque pueden atacar a nivel sistémico.

Estos microorganismos tienen la propiedad característica de digerir queratina y son el único grupo de hongos que ha evolucionado para constituirse en agentes infecciosos de hombres y animales <sup>(16)</sup>.

#### **2.2.2.3.2. Medio Diagnóstico**

El diagnóstico de la enfermedad micótica, tiene su base en el laboratorio de Microbiología, aquí es donde las muestras son examinadas y se hacen los cultivos para recuperar hongos. El crecimiento está en los medios de cultivos, los cuales se examinan microscópicamente, realizando los montajes para su identificación final. Donde pueden evaluarse las características bioquímicas y morfológicas para confirmar la identificación diferencial entre las especies <sup>(16)</sup>.

#### **2.2.2.3.3. Pruebas diagnósticas de laboratorio.**

A. Citología: consisten en raspados o hisopos tallados sobre las lesiones superficiales, exudado o materiales de catéteres intravenosos, colocados sobre una lámina portaobjeto.

B. Cultivo: Agar de Sabouraud, se cultivan a temperatura ambiente a 37°C. Se busca el crecimiento por gemación y pseudomicelios.



C. Examen microscópico: Para lo cual se utiliza la tinción de Gram en busca de pseudohifas, colocándolos previamente en KOH al 10%.

D. Serología: Pruebas que son problemáticas por ser muy especializadas.

E. Pruebas cutáneas: Positiva siempre en pacientes adultos. Por lo tanto se usa como indicador de inmunidad celular competente.

F. Recientemente aplicada la prueba THE LIGHT CYCLER SYSTEM: Método utilizado para verificar el grado de patogenicidad, además de evaluar la terapéutica eficaz en el tratamiento en enfermedades micóticas.

Debido a la presencia normal de este agente en el organismo, el diagnóstico debe estructurarse conjuntamente con las manifestaciones clínicas y la respuesta al tratamiento. El instrumento principal para la identificación de *C. albicans* es el cultivo. El medio de Sabouraud o agar peptona-glucosa, es tal vez más ampliamente usado en la micología médica para el aislamiento y conservación de los cultivos de dermatofitos que germina produciendo colonias que recuerdan a bacterias. El medio de cultivo de agar dextrosa al 2% de Sabouraud con cloranfenicol, es recomendado en agentes dermatofitos, como en raspado de piel y mucosa o levaduras de cultivos vaginales; siendo éste no recomendado en la recuperación de hongos de muestras clínicas de otras patologías. En agar de Sabouraud se incuban a temperatura ambiente, desarrollando colonias blandas, color cremoso que tienen olor a levadura, son irregulares, opacas y con el tiempo desarrollan hifas. El desarrollo superficial consiste en células ovales en gemación.

Otro tipo de cultivo es el de harina de maíz con Tween-80 y en el agua de papas favorecen al desarrollo. La mayor parte de los hongos crece rápidamente, pero las formas patógenas suelen hacerlo de una forma relativamente lenta. Pueden ser necesarias seis a cuatro semanas de incubación o quizás más <sup>(16)</sup>.

#### **2.2.2.3.4. Farmacología**

Existe una variedad de antifúngicos. Los más utilizados se pueden mencionar:

- Nistatina
- Anfotericina B
- Fluconazol
- Ketoconazol
- Miconazol

##### **2.2.2.3.4.1. Nistatina y Anfotericina B**

La Nistatina y la Anfotericina B son antifúngicos que forman complejos con esteroides, en particular ergosterol en las membranas de los hongos.

La nistatina en forma tópica es efectiva contra la *C. albicans*. Cuando se administra por vía oral es mínima, siendo su acción limitada al intestino. La anfotericina B es efectiva en las micosis profundas. En aquellos casos de infección

micótica en pacientes portadores de prótesis. Bating y cols desarrollaron investigación en este tipo de casos en donde diluyen nistatina líquida en solución jabonosa para el lavado de la prótesis. Antiguamente éste era conocido comercialmente como Hibitane.

#### **2.2.2.3.4.2. Fluconazol**

El fluconazol es miembro de la familia de agentes antifúngicos triazólicos; es un inhibidor potente y específico de la síntesis de esteroides en los hongos. El fluconazol, administrado tanto por vía oral como intravenosa, es activo en una variedad de infecciones fúngicas en animales. Su actividad ha sido demostrada contra micosis oportunistas, como las infecciones por *C. albicans*, incluso candidiasis sistémica y en animales inmunocomprometidos. Las propiedades farmacodinámicas de fluconazol son similares luego de la administración por vía oral o intravenosa. Es bien absorbido luego de la administración oral y los niveles plasmáticos (la biodisponibilidad sistémica), están por encima del 90% de los obtenidos después de la administración intravenosa. La absorción oral no es afectada por la ingestión simultánea de alimentos. Vía oral: tratamiento de la candidiasis orofaríngea. Vía tópica: tratamiento de la candidiasis mucocutánea y estomatitis. Está indicado en Candidiasis orofaríngea, esofágica, infecciones por *Candida* del tracto urinario, peritonitis, y formas sistémicas de candidiasis, pacientes inmunocompetentes, pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), trasplante de órganos o con otras causas de inmunodepresión. Usado de manera profiláctica en pacientes que recibirán radioterapia. Fluconazol puede ser usado como terapia de mantenimiento para prevenir la recaída de la

enfermedad sobre todo en aquellos que presentan factores predisponentes para la infección candidiásica.

Estudios recientes han comprobado el uso de itraconazol como agente alternativo en pacientes con infección HIV/SIDA que presenta resistencia al fluconazol. Debemos hacer referencia del ravuconazole, nuevo medicamento triazole, considerado hasta los estudios realizados como un agente activo en el aspecto antifúngico patógeno.

#### **2.2.2.3.4.3. Ketoconazol**

Es una droga fungistática, que puede ser fungicida, según su concentración. Inhibe la biosíntesis de ergosterol u otros esteroides, lesionando la membrana de la pared celular del hongo y alterando su permeabilidad; inhibe la biosíntesis de triglicéridos y fosfolípidos de los hongos y la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa. En candidiasis por *C. albicans*, inhibe la transformación de los blastosporos en su forma micelial invasora. Debe administrarse con alimentos para reducir las náuseas y vómitos, facilitando su absorción. Aunque en la clínica la administración del fármaco en ayunas produce mayor absorción. Usado particularmente en Odontología en pacientes portadores de prótesis

#### **2.2.2.3.4.4. Miconazol**

Es un fungistático, Actúa por inhibición de la biosíntesis del ergosterol o de otros esteroides, lo que lesiona la membrana de la pared celular fúngica y altera su permeabilidad; como consecuencia, puede producirse la pérdida de orgánulos intracelulares esenciales. En *Candida albicans* inhibe la transformación de las

blastosporas en la forma inicial invasora. Es un fármaco de segunda elección, para el tratamiento de la candidiasis mucocutánea crónica <sup>(16)</sup>.

#### **2.2.2.4. Candidiasis orales:**

##### **2.2.2.4.1. Factores predisponentes:**

Existen muchos factores predisponentes de candidiasis tales como:

1. Sistémicos: edad, uso de antibióticos de amplio espectro, xerostomía, síndrome de Sjögren, diabetes mellitus, radiación cabeza y cuello, inducida farmacológicamente, neoplasias, disfunción endocrina, deficiencias nutricionales, inmunosupresión, quimioterapia, corticoesteroides, SIDA.
2. Locales: dentaduras mal adaptadas, fumadores, líquen plano, medicación tópica, esteroides, antibióticos <sup>(3) (11)</sup>.

##### **2.2.2.4.2. Formas clínicas**

La candidiasis bucal presenta varias formas clínicas, las cuales han sido objeto de diversas clasificaciones, siendo las más empleadas:

1. Candidiasis pseudomembranosa aguda.
  2. Candidiasis atrófica aguda.
  3. Candidiasis atrófica crónica.
  4. Candidiasis hiperplásica crónica.
- Candidiasis bucal crónica (Leucoplasia por Candida).

- Síndrome de candidiasis endocrina.
- Candidiasis mucocutánea localizada crónica.
- Candidiasis difusa crónica.

La Candidiasis pseudomembranosa aguda, se observa como una placa blanca, blanda y cremosa, la cual se puede desprender fácilmente con una gasa dejando una superficie eritematosa, erosionada o ulcerada y hasta sangrante. Aunque estas lesiones pueden presentarse en cualquier sitio, predominan en la mucosa bucal, mucosa de carrillos, cara interna de labios, bordes laterales de lengua y mucosa palatina.

La Candidiasis atrófica aguda, se observa como una placa eritematosa atrófica, en bordes y dorso de lengua como parches de depilación y desqueratinización. El paciente refiere sintomatología dolorosa y ardor.

La Candidiasis atrófica crónica, se presenta en forma de placa roja generalizada comúnmente en paladar. Puede tener las variantes clínicas de:

Queilitis angular candidiásica, caracterizada por atrofia y fisuras lineales bilaterales de las comisuras labiales <sup>(3) (11) (12)</sup>.

Candidiasis con relación a prótesis (Estomatitis subprotésica), se encuentra principalmente en la mucosa de soporte de las dentaduras protésicas. Puede observarse desde puntos eritematosos o áreas hiperémicas localizadas, zonas difusas eritematosas y lesiones de aspecto papilomatoso <sup>(3) (11)</sup>.

Candidiasis hiperplásica crónica, se observa como una placa blanca gruesa de superficie lisa o rugosa sobre un fondo eritematoso. Puede tener variantes clínicas, tales como:

Candidiasis bucal crónica o Leucoplasia por *Candida*, donde se observan placas blancas que no se desprenden. Se presenta en individuos sin predisposición a infecciones por *C. albicans* y se considera que corresponde a una lesión premaligna. Aparece con mayor frecuencia en mucosa del carrillo, dorso y bordes de lengua.

Candidiasis mucocutánea, se presenta como una candidiasis persistente en mucosas, piel y uñas. La mayoría de los pacientes manifiestan endocrinopatías y defectos del sistema inmunitario.

Candidiasis difusa crónica, se observan lesiones vegetantes que al desprenderse dejan expuestas superficies granulomatosas sangrantes. Los granulomas son múltiples y con frecuencia se ubican en piel de cara, cuero cabelludo y región escapular <sup>(3) (11) (12)</sup>.

Los siguientes son criterios diagnósticos de candidiasis: Areas con placas blancas o eritema difuso, cultivo de *Candida* a partir de saliva, observación de micelios en examen directo de la lesión, biopsia de la lesión demostrando la presencia de hifas y cambios característicos histopatológicos, titulación de anticuerpos fluorescentes.

## **2.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuáles son las especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica de pacientes del Departamento de Odontoestomatología del Centro Médico Naval “CMST”, Bellavista – 2007?

## **2.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Esta investigación surgió de la necesidad de tener información de consulta en el cuál estén consignadas las diferentes especies de *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica, así como la frecuencia de éstas, ya que existen pocos estudios sobre ello en nuestro medio.

Asimismo este trabajo es de mucha utilidad para la práctica profesional y para los pacientes con dicha patología, no sólo para conocer la variedad de especies de *Candida*, sino para evaluar y establecer medidas terapéuticas en casos de estomatitis subprotésica, evitando el mal uso y resistencia a los antimicóticos. Sabemos, según algunos antecedentes, no se han encontrado especies de *Candida* en todas las estomatitis por lo que se evitaría el uso de antimicóticos para el tratamiento de esta enfermedad, quizás mejorando la higiene y/o haciendo un rebasado o una nueva prótesis.

Adicionalmente contribuye a crear conciencia en los profesionales odontólogos del nosocomio, en el hecho de diagnosticar adecuadamente una estomatitis subprotésica y consecuentemente, prescribir una terapéutica eficaz.

## **2.5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN:**

### **2.5.1. Objetivo General:**



- Identificar las especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica de pacientes del Departamento de Odontoestomatología del Centro Médico Naval “CMST” – 2007

#### **2.5.2. Objetivos Específicos:**

- Identificar las cepas del género *Candida*, según indicadores bioquímicos, en estomatitis subprotésica de pacientes del Departamento de Odontoestomatología.
- Establecer la frecuencia de las especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica de pacientes del Departamento de Odontoestomatología.
- Valorar la frecuencia del tipo estomatitis subprotésica, tipo de prótesis removible, género y grupo etáreo de los pacientes con estomatitis subprotésica.
- Determinar la frecuencia de las especies del género *Candida* en pacientes sin estomatitis subprotésica del Departamento de Odontoestomatología.
- Determinar la frecuencia y relación de las especies del género *Candida* según tipo de estomatitis subprotésica, tipo de prótesis removible, grupo etáreo y género de los pacientes con estomatitis subprotésica.

## **2.6. HIPÓTESIS**

*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* son las especies más implicadas en estomatitis subprotésica de pacientes del Departamento de Odontoestomatología del Centro Médico Naval “CMST” – 2007.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. TIPO DE ESTUDIO:**

Trabajo clínico microbiológico descriptivo, prospectivo y transversal

Es considerado tipo descriptivo según el alcance de los resultados, ya que pretende determinar las especies de *Candida*.

Se considera de tipo prospectivo, según el tipo de ocurrencia de los hechos y registro de la información

Se considera de tipo transversal según el período y secuencia del estudio:

### **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA:**

#### **3.2.1. Población:**

La población estuvo constituida por 40 pacientes que acudieron al Departamento de Odontoestomatología del Centro Médico Naval "CMST" – 2007 divididos en dos grupos:

- **Grupo experimental:** primeros 30 pacientes con diagnóstico presuntivo de estomatitis subprotésica portadores de prótesis removibles.
- **Grupo control:** 10 pacientes sin evidencia de estomatitis subprotésica con prótesis removibles recién instaladas.

#### **3.2.2. Muestra:**

Fue la totalidad de la población.

##### **3.2.2.1. Unidad de análisis:**

Cultivo microbiológico

#### **3.2.2.2. Criterios de inclusión**

- Paciente adulto portador de prótesis removible con diagnóstico presuntivo de Estomatitis subprotésica.
- Paciente sin terapia antimicótica.
- Paciente sin tratamiento periodontal.
- Paciente que no presente enfermedad sistémica que afecte al sistema inmunológico.
- Paciente que no esté bajo tratamiento de radioterapia y/o quimioterapia

#### **3.2.2.3. Criterios de exclusión:**

- Paciente que no cumpla con al menos uno de los criterios de inclusión

### **3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

Variable: 1 / Covariable: 2, 3, 4 y 5	Dimensión	Indicador	Escala	Categoría
1. Especies de <i>Candida</i>	Frecuencia	Número de cada especie presente en la muestra	Ordinal	
	Especie	Valoración del metabolismo de substratos según código de interpretación del Sistema API CANDIDA	Nominal	- <i>Candida albicans</i> - <i>Candida tropicalis</i> - <i>Candida glabrata</i> - <i>Candida guilliermondi</i>
2. Tipo de Estomatitis subprotésica		Apariencia clínica de la inflamación de las mucosas que soportan las prótesis	Nominal	- Tipo I - Tipo II - Tipo III
3. Tipo de prótesis removible		Diseño protético	Nominal	- Parcial - Total
4. Grupo etáreo		Años vividos	Nominal	- Adulto: 18 – 59 años - Adulto mayor: 60 a más
5. Género		Características fenotípicas	Nominal	- Masculino - Femenino

### 3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.4.1. Materiales

- Sillones dentales
- Espejos bucales

- Guantes de examen
- Mascarillas
- Lapiceros
- Fichas de recolección de datos
- Tubos de ensayo sellados con caldo tioglicolato
- Medios de cultivo agar Sabouraud Cloranfenicol
- Solución salina
- Reactivos de coloración Gram
- Papel Kraft
- Hisopos estériles
- Asa de siembra
- Láminas portaobjetos
- Láminas cubreobjetos
- Mechero
- Campo
- Encendedor
- Incubadora
- Sistema de identificación de especies de *Candida*: API Candida

#### **3.4.2. Procedimientos y técnicas**

- Se realizó una prueba piloto con cinco muestras en el mismo nosocomio siendo realizado el análisis de laboratorio en el Servicio de Microbiología previa coordinación verbal con el jefe de dicho servicio.

- Se hicieron las coordinaciones escritas para obtener el permiso del Centro Médico para poder ejecutar el proyecto presentándolo ante el Comité de Ética para su aprobación.
- Se hicieron las coordinaciones verbales con los doctores y asistentes dentales encargados de todos los consultorios del Departamento para que nos avisen en caso de llegada de algún paciente con prótesis removible y sospecha de presentar la lesión.
- En el consultorio, se revisó la historia clínica del paciente y se constató que cumplan los criterios de inclusión, de no encontrar la información necesaria en la historia clínica se hizo la consulta verbal al propio paciente
- Los pacientes fueron informados sobre el proyecto de investigación y firmaron una hoja de consentimiento informado.
- Se realizó en la unidad dental, el examen clínico con espejo bucal y se hizo el diagnóstico presuntivo de estomatitis subprotésica.

#### **3.4.3. Recolección de datos:**

- Una vez diagnosticado el paciente y cumplido los criterios de inclusión se llenó la ficha de registro que contiene el número de ficha, nombre, edad, sexo, tipo estomatitis subprotésica, tipo de prótesis removible, fecha de toma de muestra, medida, resultado del análisis bioquímico.
- Inmediatamente se trajo al consultorio, los caldos tioglicolato del laboratorio de Microbiología, el cual se encuentra en el segundo piso del nosocomio.

##### **3.4.3.1. Toma de muestra:**

- El investigador realizó cuatro frotises con cuatro hisopos de madera estériles en la zona donde presente la lesión colocando dos de las

muestras en caldo tioglicolato y las otras dos realizando un extendido sobre una lámina portaobjetos. Se rompió el extremo de cada hisopo de los caldos tioglicolato y se cerró cada tubo con los hisopos dentro. Seguidamente, se rotuló los tubos y las láminas con el mismo número de ficha del paciente.

#### **3.4.3.2. Transporte de la muestra:**

- Realizado por el investigador, inmediatamente posterior a la toma, al servicio de Microbiología del departamento de Patología clínica del Centro Médico Naval “CMST” a temperatura ambiente.

#### **3.4.3.3. Estudio microbiológico:**

- Inmediatamente recibida la muestra en el Servicio de Microbiología se realizó primero el examen directo.

#### **3.4.3.4. Examen directo:**

- Se realizó la coloración Gram de las láminas conteniendo dos de los frotises, se colocó la lámina cubreobjetos y se observó en el microscopio a 100X observándose la presencia de levaduras.

#### **3.4.3.5. Cultivo:**

- Una vez que se confirmó la presencia de Levaduras se sembró en Agar Sabouraud-cloranfenicol, a temperatura ambiente por 5 a 10 días dependiendo del crecimiento.

#### **3.4.3.6. Identificación de levaduras:**

- Se obtuvo en todos los casos colonias redondas, convexas, elevadas, de color blanco – cremosas.

##### **3.4.3.6.1. Prueba del tubo germinal:**



Se toma con el asa de siembra una de las colonias aisladas y definidas, para suspender en un tubo conteniendo 2 ml. De suero sanguíneo. Seguidamente se incubó a 37 °C por cuatro horas. Al cabo de este tiempo se hizo un extendido en una lámina portaobjetos y con ayuda del microscopio a 40X se observó en las levaduras la formación del tubo germinal, de ser positivo, se confirmó la presencia de *Cándida albicans*.

#### **3.4.3.6.2. Sistema API Candida**

Cuando no se formaba el tubo germinal, la especie era no albicans, candidata a ser identificada mediante una prueba específica para identificar especies utilizándose un sistema para estudios metabólicos: API Candida que consiste en la identificación de levaduras por asimilación de diferentes substratos. El sistema tiene un código de interpretación por cada especie de acuerdo a las reacciones con los substratos.

Es un sistema estandarizado para la identificación de levaduras en 18-24 horas, especialmente las que se encuentran más frecuentemente en microbiología clínica.

La galería API Candida se compone de 10 microtubos que contienen substratos deshidratados, para realizar 12 tests de identificación (acidificación de azúcares o reacciones enzimáticas). Las reacciones que se producen durante la incubación se traducen en cambios espontáneos de color. La lectura de las reacciones se hace con la ayuda de la Tabla de

Lectura y la identificación, se obtiene consultando la lista de perfiles de ficha técnica.

**Preparación de la galería:**

- Se sacó la galería de su envase individual.

**Preparación del inóculo:**

- Se abrió una ampolla de API NaCl 0.85% Medium (2 ml).
- Con el asa de siembra, se tomó una muestra de la misma colonia que no formó el tubo germinativo y se realizó una suspensión de turbidez igual a la del patrón 3 de la escala de McFarland según el inserto, en el presente trabajo la turbidez estuvo evaluada según la pericia del laboratorista encargado del manejo del Kit.
- Se homogeneizó bien la suspensión de levaduras.

**Inoculación de la galería:**

Con la micropipeta se realizó la inoculación de la suspensión anterior de levaduras en la galería, sólo en los tubos, evitando la formación de burbujas

- Se añadieron tres gotas de aceite los 5 primeros tests (GLU a RAF) y el último test (URE) (tests subrayados) inmediatamente después de inocular la galería para evitar la oxidación.
- Se humedeció la cámara de incubación y se colocó en ella la galería
- Se incubó por 24 horas a 37°C en atmósfera aerobia.

### **Lectura de la galería**

Después de 24 horas de incubación:

- Se leyó las reacciones remitiéndose a la Tabla de Lectura de la ficha técnica, y se anotó en forma de + ó – en la hoja de resultados.
- Los tubos 8 y 9 son bifuncionales y permiten la realización de 2 reacciones en el mismo tubo:
  - tubo 8:  $\beta$ XYL (test nº 8) /  $\beta$ NAG (test nº11)
  - tubo 9:  $\beta$ GUR (test nº 9) /  $\beta$ GAL (test nº12)

### *Interpretación*

- Se codificó las reacciones obtenidas en un **perfil numérico:** en la hoja de resultados en grupos de tres y se asignó para cada uno un valor 1, 2 ó 4. Sumando al interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 4 cifras que constituyen el perfil numérico.
- Identificación se realizó buscando en la lista de perfiles numérico la especie estudiada.

#### IV. RESULTADOS

Al ser el presente un trabajo de tipo descriptivo se presentan distribuciones de frecuencia en los cuadros del 1 al 5 y del 10 al 13.

Se utilizó la prueba del chi cuadrado para establecer la relación de variables presentados en los cuadros del 6 al 9 y del 14 al 17

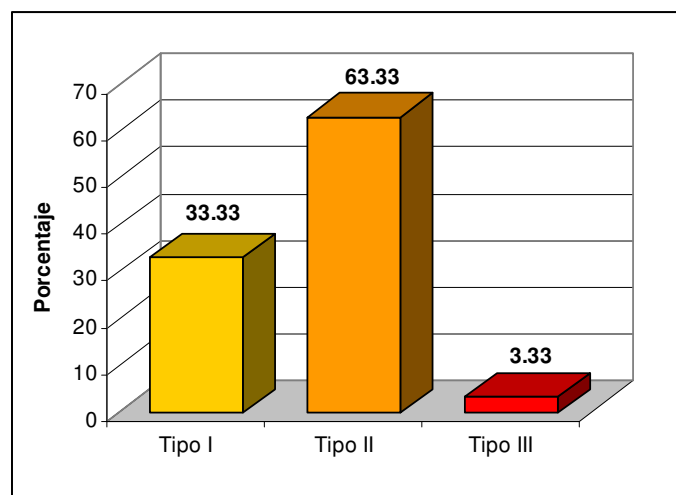
La presentación de los gráficos fueron de tipo columnas y circulares.

El procesamiento y análisis de datos se utilizó el programa informático Software Package for Social Sciences (SPSS) versión 12.0

**CUADRO 1. Distribución de pacientes con estomatitis subprotésica según tipo de estomatitis subprotésica**

ESPECIE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Tipo I	10	33.33
Tipo II	19	63.33
Tipo III	1	3.33
Total	30	100

**GRÁFICO 1. Distribución de pacientes con estomatitis subprotésica según tipo de estomatitis subprotésica**



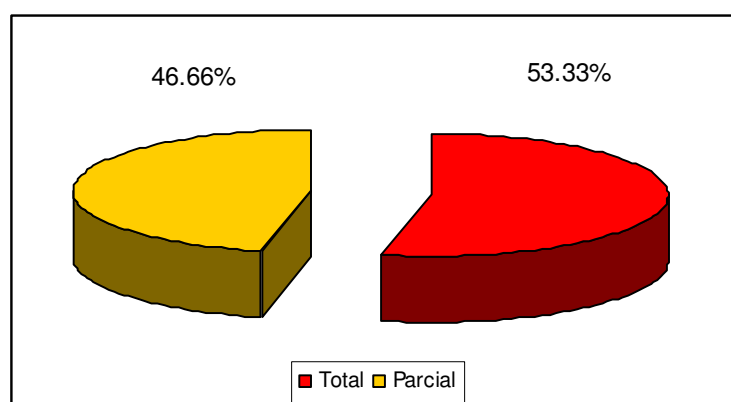
En el **Cuadro y gráfico 1** se encuentra la distribución de los pacientes según tipo de estomatitis subprotésica dividido en tres categorías: Tipo I, Tipo II y Tipo III. La de tipo II es la que presenta mayor frecuencia, representando el 63.33%, seguido de la de Tipo I con 33.33% y finalmente la de Tipo III con 3.33% de total de la muestra.

**CUADRO 2. Distribución de pacientes con estomatitis**

### subprotésica según tipo de prótesis removable

TIPO DE PRÓTESIS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Total	16	53.33
Parcial	14	46.66
Total	30	100

**GRÁFICO 2. Distribución de pacientes con estomatitis subprotésica según tipo de prótesis removable**

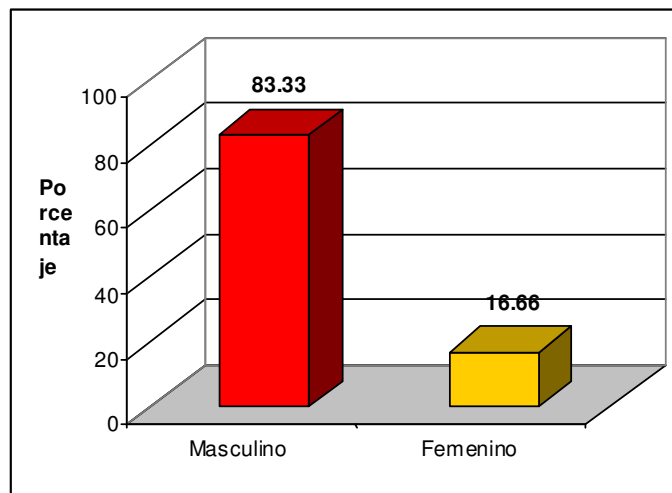


En el **Cuadro y gráfico 2** se encuentra la distribución de los pacientes según tipo de prótesis removable dividido en dos categorías: Parcial y total. La prótesis total es la que presenta mayor frecuencia con 53.33%, mientras que la prótesis parcial el 46.66% del total de la muestra.

**CUADRO 3. Distribución de pacientes con estomatitis subprotésica según género**

GÉNERO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Masculino	25	83.33
Femenino	5	16.66
Total	30	100

**GRÁFICO 3. Distribución de pacientes con estomatitis subprotésica según género**

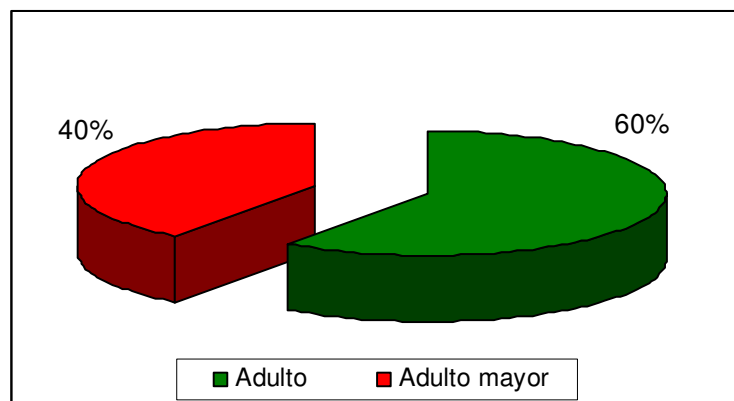


En el **Cuadro y gráfico 3** se encuentra la distribución de los pacientes según género dividido en dos categorías: Masculino y femenino. El género masculino es el de mayor frecuencia representando el 83.33% del total de la muestra, mientras que género femenino representó el 16.66%.

**CUADRO 4. Distribución de pacientes con estomatitis subprotésica según grupo etáreo**

GRUPO ETÁREO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Adulto	18	60
Adulto mayor	12	40
Total	30	100

**GRÁFICO 4. Distribución de pacientes con estomatitis subprotésica según grupo etáreo**



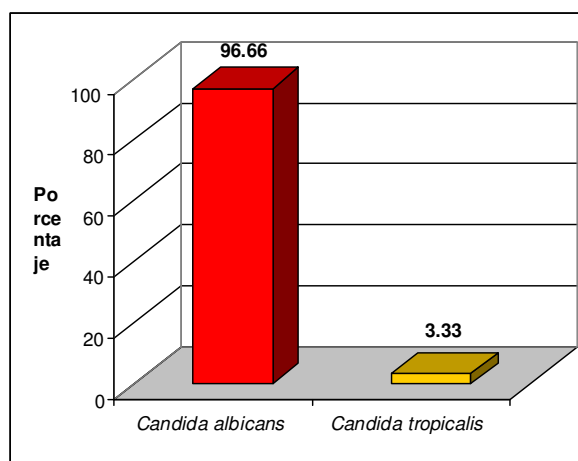
En el **Cuadro y gráfico 4** se encuentra la distribución de los pacientes según grupo etáreo dividido en dos categorías: Adulto y Adulto mayor. La categoría de adulto es la de mayor frecuencia representando el 60% del total de la muestra, seguido de adulto mayor con 40%.



**CUADRO 5. Frecuencia de cepas del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica**

ESPECIE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<i>Candida albicans</i>	29	96.66
<i>Candida tropicalis</i>	1	3.33
Total	30	100

**GRÁFICO 5. Frecuencia de cepas del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica**



En el **Cuadro y gráfico 5** se encuentra la frecuencia de cepas de *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica dividido en dos categorías: *Candida*

*albicans* y *Candida tropicalis*. La categoría de *Candida albicans* es la de mayor frecuencia representando el 96.66% del total de la muestra, seguido de la *Candida tropicalis* con el 3.33%.

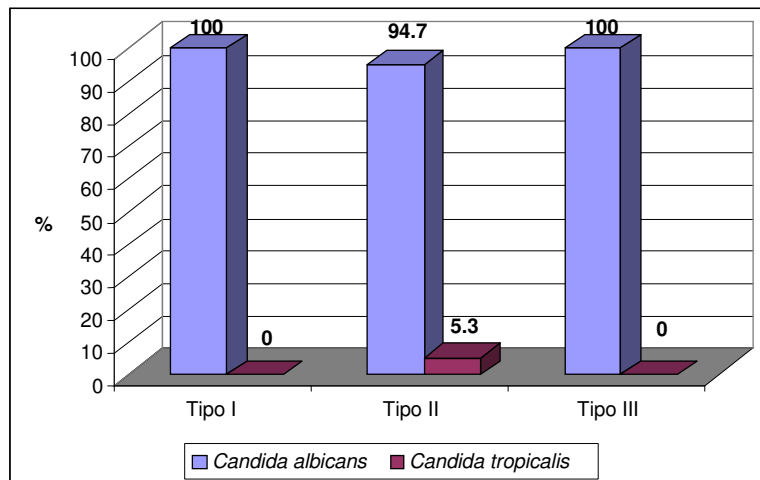
**CUADRO 6. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según tipo estomatitis subprotésica**

ESPECIES  CANDIDA	TIPO DE ESTOMATITIS SUBPROTÉSICA							
	TIPO I		TIPO II		TIPO III		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	10	100	18	94.7	1	100	29	96.7
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	1	5.3	0	0	1	3.3
Total	10	100	19	100	1	100	30	100

Chi cuadrado :0.59 P= 0.74>0.05 no existe relación estadística

Se observa que del total de Tipo I el 100% es *Candida albicans* y ninguno es *Candida tropicalis*; del total del tipo II el 94.7% es de *Candida albicans* y el 5.3% es de *Candida tropicalis*; del total del tipo III el 100% es *Candida albicans* y ninguno es *Candida tropicalis*. No se encontraron diferencias significativas P=0.74>0.05.

**GRÁFICO 6. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según tipo estomatitis subprotésica**



**CUADRO 7. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según tipo de prótesis**

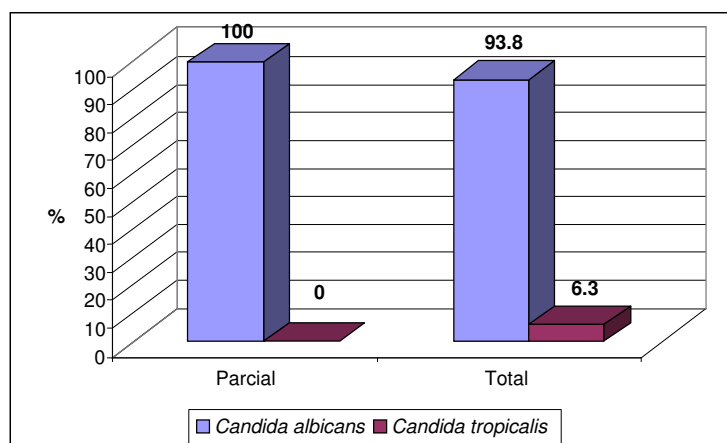
ESPECIES	TIPO DE PRÓTESIS					
	PARCIAL		TOTAL		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	14	100	15	93.8	29	96.7
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	1	6.3	1	3.3

Total	14	100	16	100.0	30	100.0
-------	----	-----	----	-------	----	-------

Chi cuadrado: 0.90 P= 0.34>0.05 no existe relación estadística

Se observa que del total de tipo de prótesis parcial el 100% es *Candida albicans* y ninguno es *Candida tropicalis*; del total del tipo de prótesis total el 93.8% es *Candida albicans* y el 6.3% es *Candida tropicalis*. No se encontraron diferencias significativas  $P=0.34>0.05$ .

**GRÁFICO 7. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según tipo de prótesis**



**CUADRO 8. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según género**

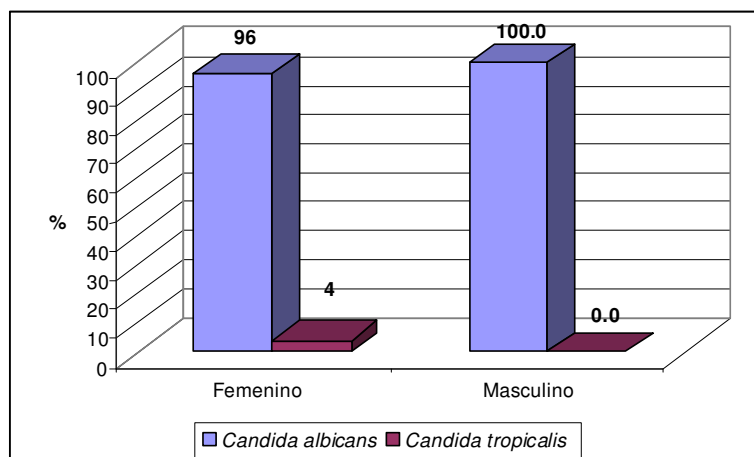
ESPECIES	GENERO					
	FEMENINO		MASCULINO		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	24	96	5	100	29	96.7

<i>Candida tropicalis</i>	1	4	0	0	1	3.3
Total	25	100	5	100	30	100.0

Chi cuadrado: 0.20 P= 0.64>0.05 no existe relación estadística

Se observa que del total de personas del género femenino, el 96% es *Candida albicans* y 4% es *Candida tropicalis*; del total de personas del género masculino, el 100% es *Candida albicans* y ninguno es *Candida tropicalis*. No se encontraron diferencias significativas  $P=0.34>0.05$ .

**GRÁFICO 8. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según género**



**CUADRO 9. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según grupo etéreo**

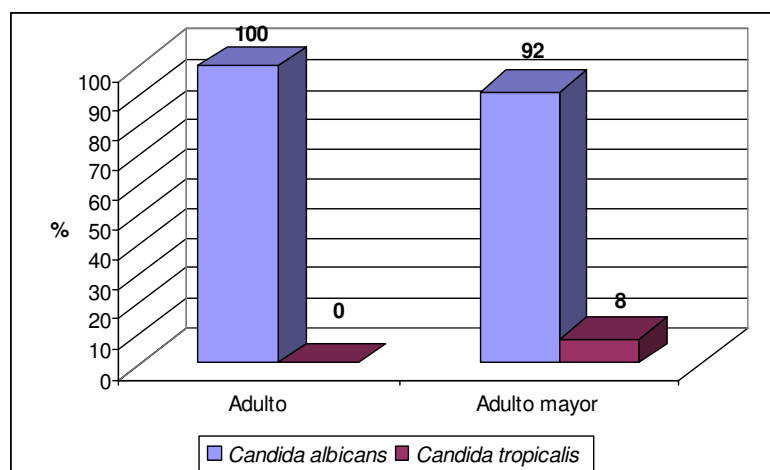
ESPECIES	GRUPO ETÁREO	TOTAL
----------	--------------	-------

CANDIDA	ADULTO					
	ADULTO		MAYOR			
	N	%	N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	18	100	11	92	29	96.7
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	1	8	1	3.3
Total	18	100	12	100	30	100.0

Chi cuadrado: 1.55 P= 0.21>0.05 no existe relación estadística

Se observa que del total personas del grupo etáreo Adulto, el 100% es *Candida albicans* y ninguno *Candida tropicalis*; del total del grupo etáreo Adultos mayor, el 92% es *Candida albicans* y el 8% es *Candida tropicalis*. No se encontraron diferencias significativas  $P=0.21>0.05$ .

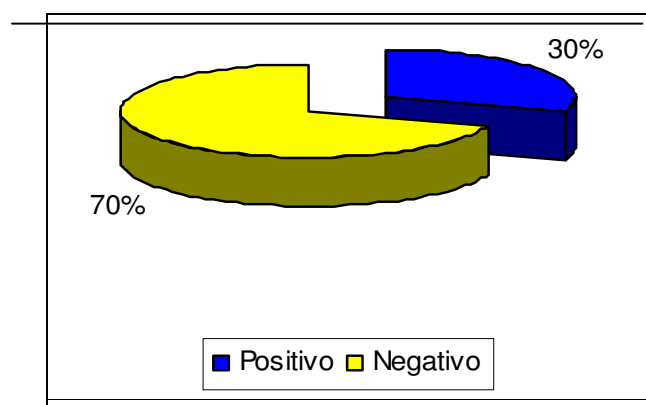
**GRÁFICO 9. Distribución de especies del género *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica según grupo etáreo**



**CUADRO 10. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control)**

ESPECIE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Positivo	3	30
Negativo	7	70
Total	10	100

**GRÁFICO 10. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control)**

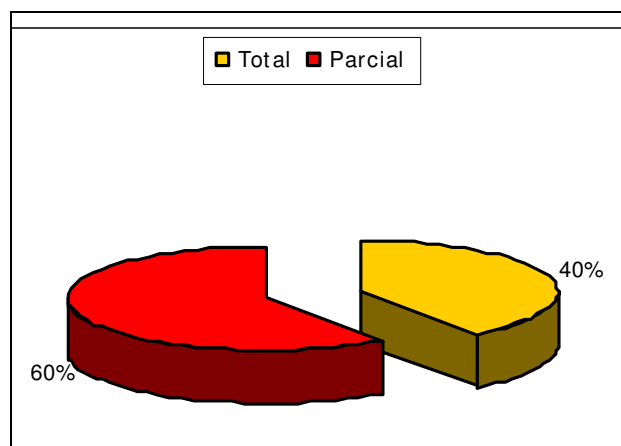


En el **Cuadro y gráfico 10** se encuentra la frecuencia de *Candida albicans* en pacientes sin Estomatitis Subprotésica (grupo control) dividido en dos categorías: *Positivo* y *negativo*. La categoría de negativo es la de mayor frecuencia representando el 70% del total de la muestra, seguido de la categoría de positivo con 30 %.

**CUADRO 11. Distribución de pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según tipo de prótesis removable**

TIPO DE PRÓTESIS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Total	4	40
Parcial	6	60
Total	100	100

**GRÁFICO 11. Distribución de pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según tipo de prótesis removable**



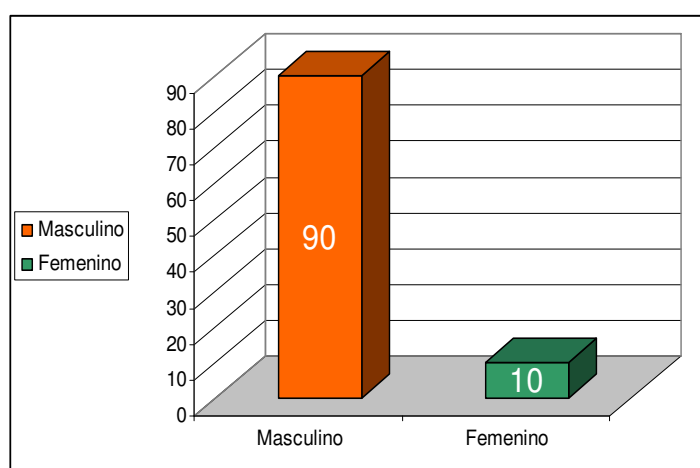


En el **Cuadro y gráfico 11** se encuentra la distribución de los pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según tipo de prótesis removible dividido en dos categorías: Parcial y total. La prótesis parcial es la que presenta ligeramente mayor frecuencia con 60 %, mientras que la prótesis total el 40 % del total de la muestra.

**CUADRO 12. Distribución de pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según género**

GÉNERO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Masculino	9	90
Femenino	1	10
Total	10	100

**GRÁFICO 12. Distribución de pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según género**

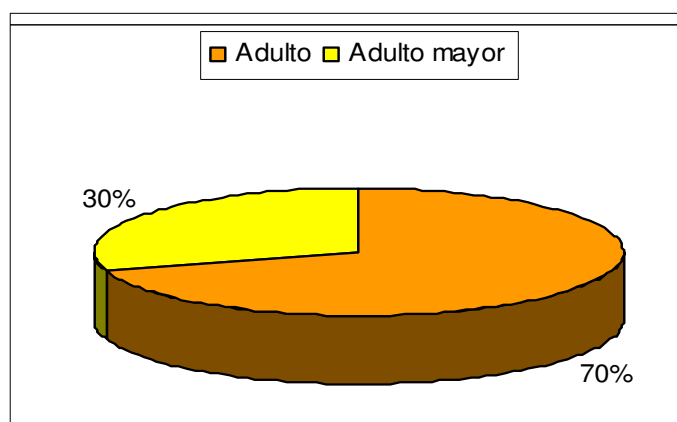


En el **Cuadro y gráfico 12** se encuentra la distribución de los pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según género dividido en dos categorías: Masculino y Femenino. El género masculino es el de mayor frecuencia representando el 90 % del total de la muestra, mientras que género femenino representó el 10 %.

**CUADRO 13. Distribución de pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según grupo etáreo**

GRUPO ETÁREO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Adulto	7	70
Adulto mayor	3	30
Total	10	100

**GRÁFICO 13. Distribución de pacientes sin estomatitis subprotésica (grupo control) según grupo etáreo**



En el **Cuadro y gráfico 13** se encuentra la distribución de los pacientes según grupo etáreo dividido en dos categorías: Adulto y Adulto mayor. La categoría de adulto es la de mayor frecuencia representando el 70% del total de la muestra, seguido de adulto mayor con 30%.

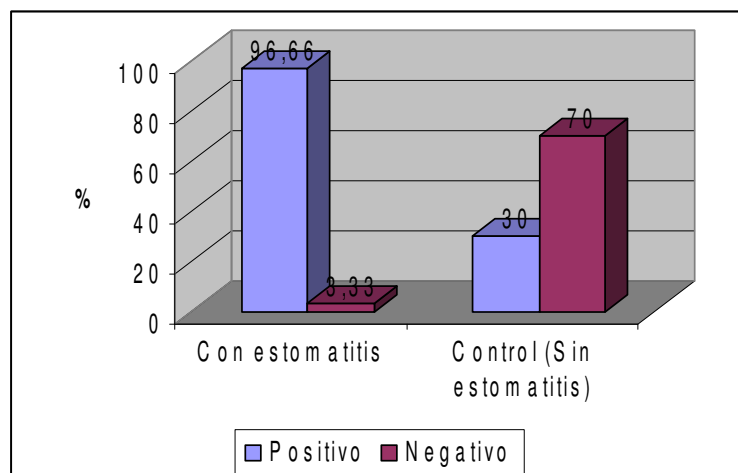
**CUADRO 14. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica (grupo control)**

	CON ESTOMATITIS		CONTROL (SIN ESTOMATITIS)	
	N	%	N	%
Positivo	29	96.66	3	30
Negativo	1	3.33	7	70
Total	30	100	10	10

Chi cuadrado: 20.83 P=0.000<0.05 existe relación estadística

Se encontraron diferencias significativas P<0.05

**GRÁFICO 14. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica (grupo control)**



**CUADRO 15. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica (grupo control) según tipo de prótesis**

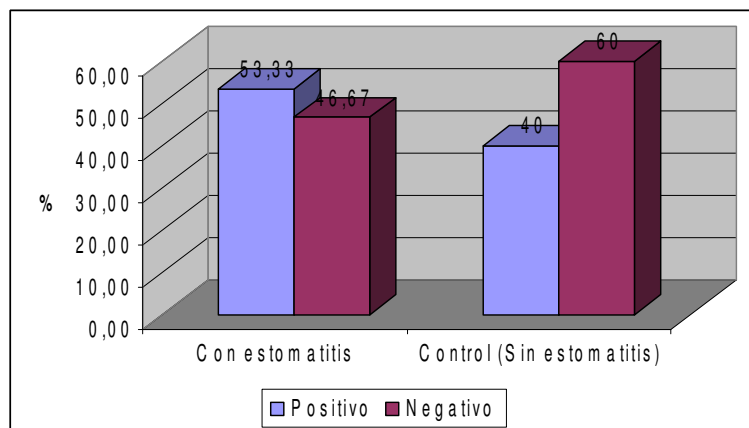
TIPO DE PROTESIS	CON ESTOMATITIS		GRUPO CONTROL (SIN ESTOMATITIS)	
	N	%	N	%
Total	16	53,33	4	40
Parcial	14	46,67	6	60
Total	30	100	10	10

Chi cuadrado: 12.65  $P=0.000<0.05$  existe relación estadística

Se encontraron diferencias significativas  $P<0.05$

**GRÁFICO 15. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica**

**(grupo control) según tipo de prótesis**



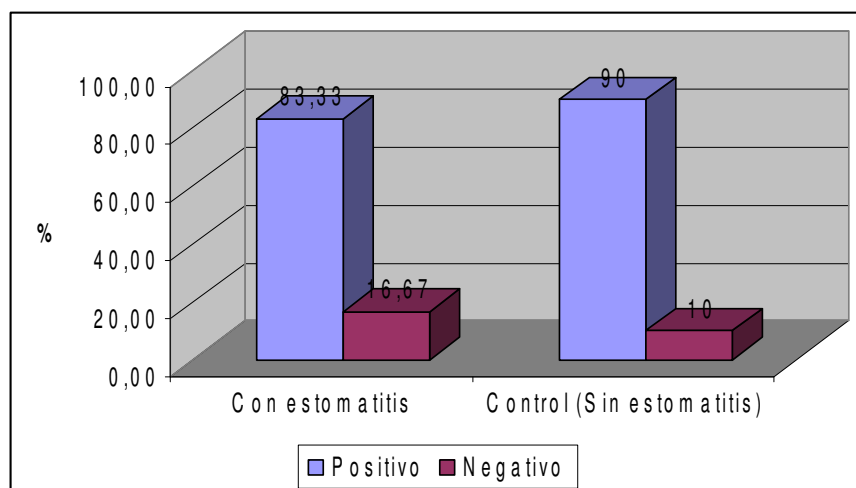
**CUADRO 16. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica (grupo control) según género**

GENERO	CON ESTOMATITIS		GRUPO CONTROL (SIN ESTOMATITIS)	
	N	%	N	%
Masculino	25	83,33	9	90
Femenino	5	3,33	1	10
Total	30	100	10	10

Chi cuadrado: 7.06  $P=0.008<0.05$  existe relación estadística

Se encontraron diferencias significativas  $P<0.05$

**GRÁFICO 16. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica (grupo control) según género**



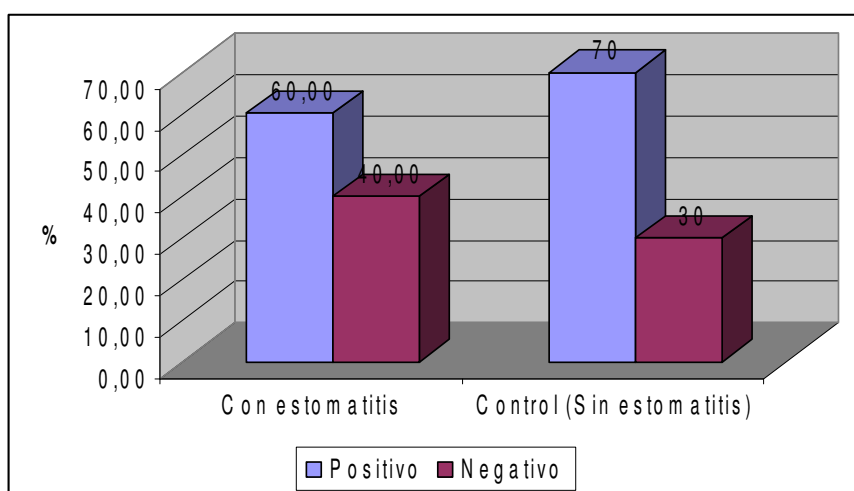
**CUADRO 17. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica (grupo control) según grupo etáreo**

GRUPO ETAREO	CON ESTOMATITIS		GRUPO CONTROL (SIN ESTOMATITIS)	
	N	%	N	%
Adulto	18	60	7	70
Adulto mayor	12	40	3	30
Total	30	100	10	10

Chi cuadrado: 0.32 P=0.578>0.05 no existe relación estadística

No se encontraron diferencias significativas  $P>0.05$

**GRÁFICO 17. Frecuencia de *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica y sin estomatitis subprotésica (grupo control) según grupo etáreo**



## V. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudios son claros, y se confirma la hipótesis: las especies de *Candida* más implicadas en estomatitis subprotésica fueron según el Cuadro 5, *Candida albicans* y *Candida tropicalis*, no se logró encontrar a la especie *Candida glabrata* consignada también en la hipótesis.

Cabe destacar que en todas las muestras se logró aislar al Género *Candida*, existen algunos trabajos como los de Rodríguez y col (1996 – USA), Dinatale (1998 – Venezuela), Lazarde (2001 - Venezuela) y Espina y col (2005 – Venezuela) en los cuales obtienen un pequeño porcentaje de cultivos negativos,

es decir, no se logró aislar el Género *Candida* de las lesiones de estomatitis subprotésica, esto responde a que la etiología de la estomatitis es multifactorial.

La estomatitis subprotésica presenta tres tipos según la apariencia clínica de la inflamación de las mucosas de los maxilares debajo de las prótesis. Se encontró que el tipo II fue el predominante con un 63.33% seguido de un 33.33% del Tipo I del total de pacientes. Estos resultados están en relación con lo estudiado por Carreira y Almagro (2000) en un grupo de 100 pacientes desdentados totales y portadores de prótesis desajustadas en la Habana – Cuba que presentaban un predominio del tipo II del 44.3% seguido del 34.3% del Tipo I. A pesar de encontrarse similares resultados en realidades culturales y socioeconómicas diferentes puede tener una explicación que al presentarse una estomatitis subprotésica Tipo II el paciente refiere algún tipo de sensación subjetiva, esto lo obliga de alguna manera a observar sus mucosas e ir al especialista siendo los nosocomios generalmente donde se hacen este tipo de estudios y por ende, son detectados y consignados en los trabajos de investigación

El tipo de prótesis removible implicada en la estomatitis subprotésica ligeramente predominante fue la prótesis total representando un 53.33% del total de pacientes. Esta predominancia concuerda con lo estudiado por Lazarde J y col (2001) en Caracas que de las 456 Historias clínicas de pacientes con estomatitis subprotésica que evaluó, el 75.66% portaba una prótesis total y el 24,34% prótesis parcial. Además Lazarde encontró en un grupo de 40 pacientes con candidiasis atrófica la predominancia del uso de prótesis total (67.5%). Según éste



investigador venezolano la preferencia por la prótesis total se explica por la mayor área de contacto que cubre a las mucosas y por la falta de soporte en relación con las prótesis parciales. La presencia de los apoyos oclusales en las prótesis parciales permiten que éstas no se intruyan y lesionen los tejidos que las soportan, en cambio en las prótesis totales las mucosas la soportan directamente y en su totalidad.

En la presente el género masculino fue el más afectado con un 83.33% y el femenino con 16.66%. Difiere con Lazarde y col (2001) y Noguera – Fleitas (2006) que encontraron una predominancia marcada del género femenino por el masculino en Caracas y Mérida (Venezuela) respectivamente. Los resultados de este estudio se pueden explicar por la mayor afluencia de los pacientes del género masculino al Centro Médico Naval, ya que, la mayoría de la población naval es del género masculino y los tratamientos para ellos son gratuitos, para las esposas, madres, hijas y suegras el tratamiento tiene un costo, en algunos casos, más elevado que en los consultorios particulares.

El grupo etáreo que predominó fue el adulto (60%) en contraposición con el adulto mayor (40%), éste resultado se relaciona con lo obtenido por Lazarde (2001) un mayor porcentaje en el rango de edades de 51 a 60 años (40%), este rango pertenece al grupo etáreo adulto. En los trabajos realizados por dos estudiosos mexicanos Campos y Bello (1999) sólo en pacientes geriátricos, comprobaron la hipótesis de que a medida que aumentaba la edad las colonias de

Cándida en cavidad bucal disminuían. Según éstos autores la causa de ésta disminución de colonias conforme aumenta la edad, se debe a que en el grupo etáreo de 60-69 años los pacientes tienden más al uso de su prótesis, al tabaquismo y alcoholismo, también en éste grupo ocurren alteraciones en la función de linfocitos T y B.

Sólo se encontraron dos especies de *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica en los pacientes, al *Candida albicans* con 96.66% seguido del *Candida tropicalis* con 3.33%. Dinatale (1998 – Venezuela) encontró predominio de *C. albicans* (78%). Lazard y col (2001), en sus dos trabajos, encontró al *C. albicans* (72.5%) seguido de *C. tropicalis* (15%) y *C. glabrata* (2%). Alvarado y col (2002 – Chile) halló al *C. albicans* (54%), *C. parapsilosis* (24%), *C. tropicalis* (12%) y *C. glabrata* (10%). En el trabajo de Ynca (2006 – Perú) en Candidiasis pseudomembranosa encontró al *C. albicans* (70.73%), *C. tropicalis* (14.63%), *C. glabrata* (7.32%). En la mayoría de investigaciones el *C. albicans* predomina su presencia por sobre las otras especies, debido a su mayor patogenicidad.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las especies de *Candida* y tipo de estomatitis, tipo de prótesis, género y grupo etáreo. Al igual que Mata (2000 – Venezuela) que encontró que no hubieron diferencias significativas entre sexo y presencia de *Candida albicans*.

En cuanto a la presencia de *Candida albicans* en pacientes SIN estomatitis subprotésica (grupo control) se encontró un resultado similar al de Pardi (2001 – Venezuela) que también lo hizo con 10 pacientes encontrándose la levadura en

30% de los casos, al compararse este grupo con el grupo experimental se obtuvo diferencias significativas estadísticamente.

## **VI. CONCLUSIONES**

- La estomatitis subprotésica tipo II fue la más frecuente con 63.33% seguido de la tipo I con 33.33% y finalmente la tipo III con 3.33%.

- Las prótesis totales se relacionaron con una ligera mayor frecuencia con 53.33% con respecto a las prótesis parciales con 46.66%
- El género masculino fue el más afectado con 83.33% en comparación con el femenino con 16.66%
- El grupo etáreo adulto fue el más frecuente con un 60% comparando con el de adulto mayor con un 40%.
- *Candida albicans* fue la especie más implicada en la estomatitis subprotésica con un 96.66% seguido de *Candida tropicalis* con un 3.33%.
- No se encontraron diferencias significativas entre las especies de *Candida* con respecto al tipo de estomatitis subprotésica, tipo de prótesis, género y grupo etáreo.
- Existen diferencias significativas entre la presencia de *Candida albicans* en pacientes sin estomatitis subprotésica y pacientes con estomatitis subprotésica.

## VII. RECOMENDACIONES

- Sería recomendable añadir más variables como el estado de la prótesis, tiempo de uso, así como la observación microscópica de las porosidades del acrílico y aislamiento de cepas de los mismos.
- Además sería interesante, en base a los datos obtenidos en el presente estudio, agregar condiciones sistémicas comprometidas (como por ejemplo pacientes inmunodeprimidos, infección por VIH/SIDA, diabetes, etc.) que pueden incrementar la presencia de cepas de *Candida*
- Realizar estudios con una mayor cantidad de muestras, y usar otras pruebas de detección para poder recuperar mayor cantidad de cepas de *Candida* presentes en las lesiones candidiásicas.
- Complementar estudios similares con trabajos de sensibilidad antimicótico in vitro e in vivo para determinar el antimicótico de elección.
- Por lo pronto, con el presente trabajo se espera contribuir a otros estudios que pudieran apoyarse en esta base de datos para enriquecer aún más los conocimientos que buscan mejorar la salud bucal, ya que los trabajos descriptivos son la fuente y base para llegar a estudios más profundos y especializados.

## RESUMEN

El propósito del presente fue de identificar las especies de *Candida* implicadas en estomatitis subprotésica en pacientes del Departamento de Odontoestomatología del Centro Médico Naval "CMST" – 2007

Se analizaron los 30 primeros pacientes con diagnóstico de estomatitis subprotésica que acudían al Departamento, a los cuales se les realizó cuatro frotises, dos para el examen directo microscópico (con coloración Gram) para confirmar la presencia de levaduras, y dos para el cultivo en Agar Sabouraud+Cloranfenicol, del crecimiento en este agar, se hizo la prueba del tubo germinal para determinar la presencia de *Candida albicans*, de salir negativo esta prueba, se llevaba a cabo la identificación de la especie mediante el sistema Api Candida.

Se obtuvieron entre otros resultados que *Candida albicans* fue la especie más implicada en la estomatitis subprotésica con un 96.66% seguido de *Candida tropicalis* con un 3.33%.

## SUMMARY

The purpose of this was to identify the species of *Candida* involved in stomatitis subprotésica in patients of the Department of Dental Naval Medical Center "CMST" - 2007

We analyzed the first 30 patients diagnosed with stomatitis subprotésica who went to the Department, to which were conducted four frotises, two for the direct microscopic examination (colouring Gram) to confirm the presence of yeast, and two to be planted in Agar Sabouraud + Chloramphenicol, growth in the agar, it was the germ tube test to determine the presence of *Candida albicans*, to leave this negative test was carried out to identify the species by the API system *Candida*.

Among other results were obtained that *Candida albicans* was the most involved in stomatitis subprotésica with a 96.66% followed by *Candida tropicalis* with a 3.33%.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Kulak Y, Arikan A, Delibalta N. Comparision of three different treatment methods for generalized denture stomatitis. J Prosthet Dent (Istambul). 1994; 72(9): 283-88. Citado en PubMed PMID: 7965901.
2. Rodríguez A, Urquia M, Cutando A, Asencio R. Denture stomatitis: Quantification of interleukin-2 production by mononuclear blood cells cultured with *Candida albicans*. J Prosthet Dent (Spain). 1996; 75(4): 426-31. Citado en PubMed PMID: 8642530.
3. Cardozo E, Salazar E, Perrone M, Pardi G. Estudio de la eficacia de la Anfotericina tópica en pacientes con Estomatitis Subprotésica. Infectología (Venezuela). 1996; 12(3): 2-6.
4. Martínez G., Perurena M., Núñez J., Fernández C., Bandera F. Aislamiento, Identificación y Tipificación de Levaduras en pacientes VIH positivos con Candidiasis Oral. Rev. Cubana. Med. Trop (La Habana). 1997; 49(3) :174-180.
5. Martín-Mazuelos E, Aller AI, Romero MJ, Rodriguez-Arnujo A, Gutiérrez MJ, Bernal S et al. Response to fluconazole and itraconazole of *Candida* spp in denture stomatitis. Mycoses (Sevilla). 1997; 40(7-8): 283-9. Citado en PubMed PMID: 9476511.
6. Mac Neill S, Rindler E, Walker A, Brown AR, Cobb CM. Effects of tetracycline hydrochloride and chlorhexidine gluconato on *Candida albicans*. An in vitro study. J Clin Periodontol. 1997; 24: 753-60.



7. Giuliana G, Pizzo G, Milici ME, Musotto G, Giangreco R. In vitro antifungal properties of mouthrinses containing antimicrobial agents. J Periodontol. 1997; 68: 729-33.
8. Dinatale E. Estudio sobre la respuesta alérgica en pacientes de la Facultad de Odontología de la U.C.V. con Estomatitis Subprotésica y cultivo negativo para levaduras (1994-1995). Trabajo de ascenso. Fac. Odontología. U.C.V. 1998.
9. Cidranes BM, Delgadi GE. Alteraciones clínicas encontradas en pacientes portadores o no de prótesis estomatológica. Revista "Archivo Médico de Camagüey". 1998; 2(1).
10. Campos BM, Ovalle CW. Prevalencia de *Cándida* bucal en pacientes geriátricos. Rev ADM Mexico. 1999; 56(6): 230-233.
11. Giuliana G, Pizzo G, Milici ME, Giangreco R. In vitro activities of antimicrobial agents against *Candida* species. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod (Palermo). 1999; 87(1): 44-9.
12. Bello Y, Ovalle CW. Prevalencia de *Candida* bucal en pacientes geriátricos. Revista de la Asociación Dental Mexicana. Enero-Marzo 1999; Nr 6 Volume 44.
13. Mata HM, Perrone M. La prótesis odontológica en la ecología de *Candida albicans* en cavidad bucal. Trab. de ascenso. Fac. de Odontología. U.C.V. 2000
14. Carreira PV, Almagro UZ. La estomatitis subprótesis en pacientes desdentados totales. Rev Cubana Estomatol. Ciudad de La Habana. Sep.-dic. 2000; v.37 n.3.

15. Lazarde LJ, Pacheco A. Identificación de especies de candida en un grupo de pacientes con candidiasis atrófica crónica. Acta Odontol.Venez Caracas. Ene. 2001; v.39 n.1
16. Lazarde J. Estomatitis subprotésica. Acta Odontol. Venez. Caracas. Dic. 2001; v.39 n.3.
17. Pardi G, Cardozo E, Perrone M, Salazar E. Detección de especies de *Candida* en pacientes con estomatitis subprotésica. Acta odontol. Venez. Caracas. Dic. 2001; v.39 n.3.
18. Alvarado PD, Díaz JM, Silva V. Identificación y susceptibilidad antifúngica de Candida spp aisladas de micosis invasora. Influencia del porcentaje de inhibición del crecimiento para la determinación de CIM. Rev. méd. Chile. Santiago. Abr. 2002; v.130 n.4.
19. Sotomayor JC, Pineda MM, Galvez CL, De la Cruz CA. Alteraciones clínicas de la mucosa bucal en personas de la tercera edad portadoras de prótesis totales. Odontología Sanmarquina; Lima. 2002; 1(10): 17-22. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVrevistas/odontologia/2002\\_n10/alteclini.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVrevistas/odontologia/2002_n10/alteclini.htm).
20. Ruiz AJ, García MP, Puerto JL, Marín P, Saldarreaga A, Moya P. Evaluación de un nuevo medio CHROMagar Candida para la identificación presuntiva de levaduras. Rev Diagn Biol. Madrid. Jan.-Mar. 2003; vol.52 no.1.
21. Espina ML, Guillen GJ, Calvo B, Mila L. Caracterización morfológica y fisiológica de las especies Cándida aisladas de la cavidad bucal de pacientes geriátricos. Maracaibo dic. 2005; OD v.2 n.2.

22. Romo AE, Moreno MV, Antuna BS, Fortoul VDGT, Muñoz HB. Análisis microscópico de la adherencia de *Candida albicans in vitro* sobre resina acrílica utilizada para bases de dentaduras procesada con tres diferentes técnicas. Rev Odont Mex 2006; 10 (4): 167-172.
23. Noguera GA, Fleitas AT. Frecuencia de estomatitis subprotésica en pacientes portadores de dentaduras totales. Revista Odontológica de los Andes. Mérida-Venezuela. 2006; VOL. 1.
24. Ynca CJ. Especies de *Candida* implicadas en Candidiasis Pseudomembranosa bucal, en pacientes con cáncer de cabeza y cuello sometidos a Radioterapia del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas y Hospital Nacional Edgardo Rebagliati – 2005. Tesis para obtener el título profesional de Cirujano dentista. Lima- Perú. 2006.
25. Liébana J. Microbiología Oral. 1era. Edición. Edit. McGraw Hill Interamericana. México, DF. 1997
26. Arendorf TM, Walker DM Denture stomatitis: a review. J Oral Rehabilitation. 1987; 14: 217-27.
27. Newton AV. Denture sore mouth a possible aetiology. Br Dent J. 112: 357. 1962.
28. Sosa M. *Candida albicans* – Revisión de la Literatura. Miranda – Venezuela. 2004. Disponible en: <http://www.odontología-online.com>.
29. Pardi G. Determinantes de la patogenicidad de *Candida albicans*. Acta odontol. Venez. UCV. Junio 2002; vol.40, no.2, p.185-192.
30. Calderone R, Braun P. Adherence and Receptor Relationships of *Candida albicans*. Microbiol Rev. USA – 1999; 55(1): 1-20.

31. Branting C, Sund ML, Linder LE. The Influence of *Streptococcus mutans* on Adhesion of *Candida albicans* to Acrylic surfaces *in vitro*. Archs Oral Biol. USA.1989; 34: 347-353.
32. Inserto del Kit API<sup>®</sup> Candida - bioMérieux<sup>®</sup> SA. Lyon-Francia. 2008

## ANEXO 1

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Ud. va a participar en un trabajo de investigación diseñado para pacientes que como Ud. sufren de inflamación de las encías que están debajo de las prótesis, denominándose ésta enfermedad: **estomatitis subprotésica**, producto de una infección de hongos, mala higiene, uso de prótesis antiguas

Este trabajo consiste en realizar una toma de muestra con un hisopo estéril en la lesión de estomatitis subprotésica que Ud. presenta. El investigador la llevará al Servicio de Microbiología del CEMENA para identificar que tipo de hongos se encuentran en la lesión. Cualquier duda que Ud. tenga sobre esta investigación la podrá consultar a la Asesora del mismo: Dra. Elba Martínez Cadillo, docente de la cátedra del curso de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Éste trabajo se hace respetando las normas éticas y de acuerdo al código de Helsinki. La información que Ud. y su salud se obtenga en esta investigación es absolutamente confidencial, aunque los resultados de esta investigación se publicarán y se presentarán en reuniones odontológicas, su identidad no será revelada.

He leído y entendido en qué consiste éste trabajo y acepto libre y voluntariamente participar en él.

Lima,.....de.....del 2007

---

Firma del participante

\_\_\_\_\_

Firma del Investigador

**ANEXO 2**

**N° DE FICHA: \_\_\_\_\_**

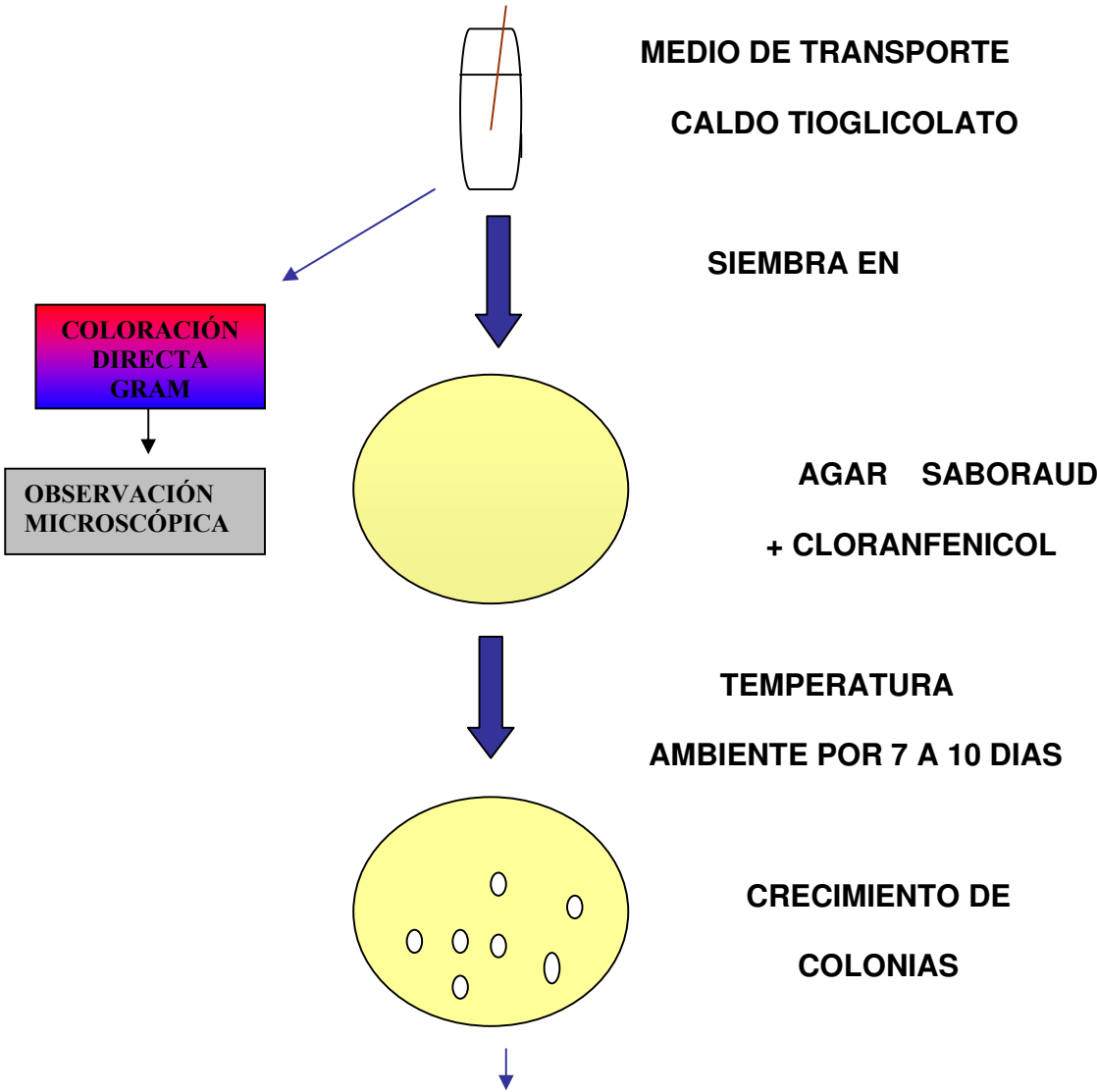
**FICHA DE DATOS**

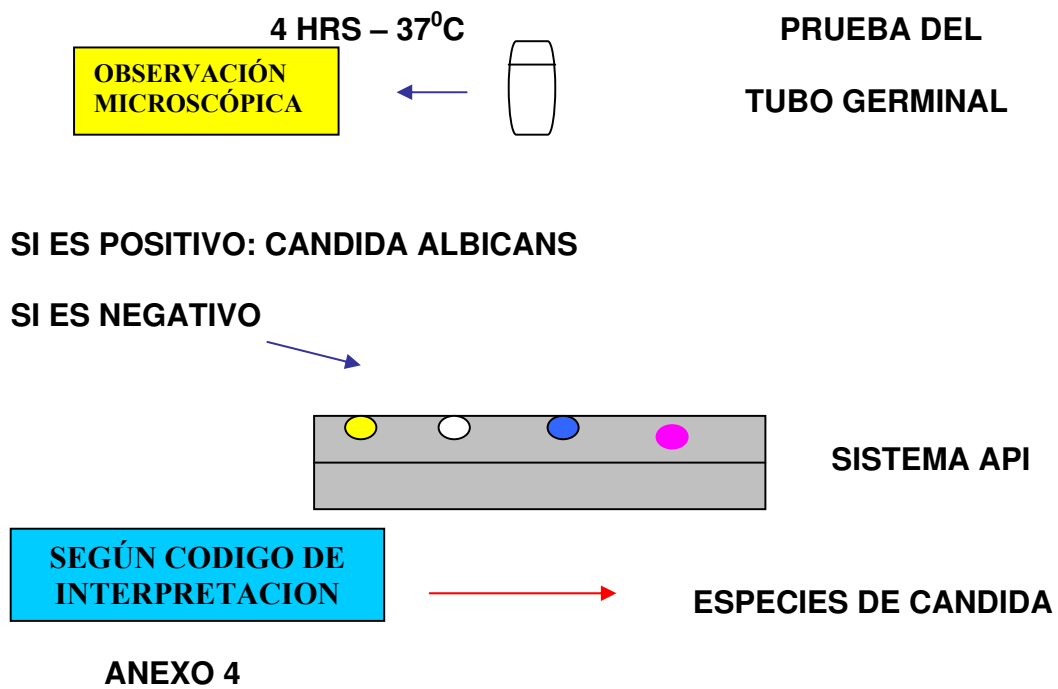
- **FECHA DE TOMA DE MUESTRA:** \_\_\_\_\_
- **NOMBRE DEL PACIENTE:** \_\_\_\_\_
- **H.C.:** \_\_\_\_\_
- **TIPO DE ESTOMATITS SUBPROTÉSICA**
  - Tipo I: ☐                      - Tipo II: ☐                      - Tipo III: ☐
- **TIPO DE PROTESIS:**
  - Parcial: ☐    - Total: ☐
- **GRUPO ETÁREO:**
  - Adulto: ☐    - Adulto mayor: ☐
- **GÉNERO:**
  - Masculino: ☐    - Femenino: ☐
- **RESULTADO DE LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL G: CANDIDA**

Especie	Presencia
<i>CANDIDA ALBICANS</i>	
<i>CANDIDA TROPICALIS</i>	
<i>CANDIDA GLABRATA</i>	
....	

**ANEXO 3**

**MUESTRA: FROTIS DE LA LESIÓN**





**FIGURA 1: IMAGEN DE LA LESIÓN (ES TIPO I)**



**FIGURA 2: TOMA DE MUESTRA, SE OBSERVA SACANDO DEL PAPEL  
KRAFT AL HISOPO ESTÉRIL**





**FIGURA 3: PRIMEROS DOS HISOPOS EN CALDO TIOGLICOLATO**  
**PARA EL TRANSPORTE**



**FIGURA 4: SIGUIENTES DOS HISOPOS HACIENDO EL FROTIS EN LA  
LÁMINA PARA EL EXAMEN MICROSCÓPICO DIRECTO**



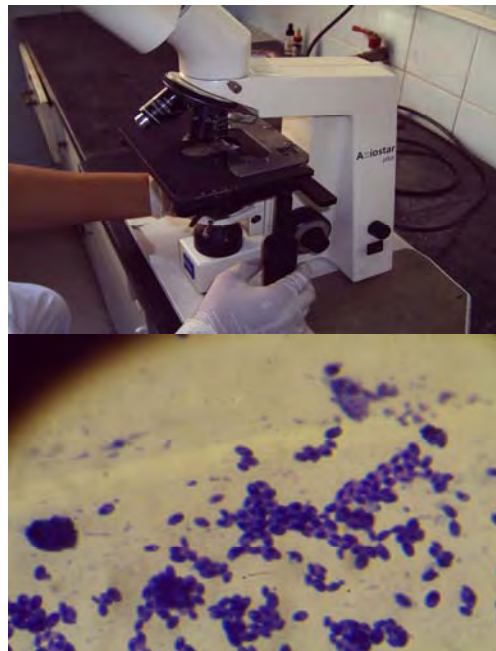
**FIGURA 5: SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL DPTO. DE  
PATOLOGÍA CLÍNICA DEL CENTRO MÉDICO NAVAL “CMST”**



**FIGURA 6: EXAMEN MICROSCÓPICO DIRECTO: COLORACIÓN GRAM**



**FIGURA 7: OBSERVACIÓN AL MICROSCÓPIO DE LAS LEVADURAS**



**FIGURA 8: SIEMBRA EN EL AGAR SABOURAUD-CLORANFENICOL**



**FIGURA 9: INCUBACIÓN A TEMPERATURA AMBIENTE ENTRE 5 A 10 DÍAS**



**FIGURA 10: CRECIMIENTO DE LEVADURAS**





**FIGURA 11: PRUEBA DEL TUBO GERMINAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CANDIDA ALBICANS, SIEMBRA EN 1 CM DE SUERO SANGUÍNEO**



**FIGURA 12: INCUBACIÓN A 37 °C POR 4 HORAS**



**FIGURA 13: OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DEL TUBO GERMINATIVO**



**FIGURA 14: KIT API CANDIDA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CANDIDA**



**FIGURA 15: GALERÍA DEL KIT API CANDIDA**





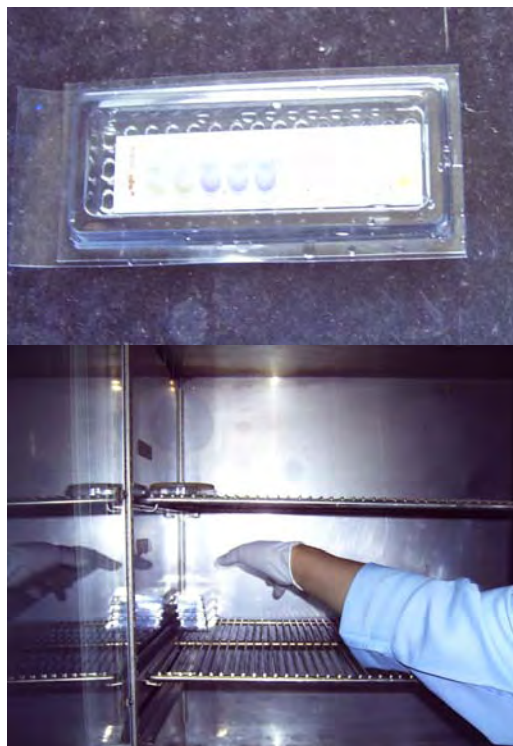
**FIGURA 16: INOCULACIÓN DE LA COLONIA A LA AMPOLLA DE API NACL**  
**0,85% MEDIUM (2 ML)**



**FIGURA 17: INOCULACIÓN DE LA GALERÍA CON LA MICROPIPETA**



**FIGURA 18: GALERÍA SEMBRADA EN LA CÁMARA DE INCUBACIÓN POR 24 HORAS A 37°C**



**FIGURA 19: LECTURA DE LA GALERÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE DE CANDIDA**



**FIGURA 20: INTERPRETACIÓN CON LA LISTA DE PERFILES NUMÉRICOS**

3 413 Trichosporon spp 2	7 083 C. neoformans 2 / Trichosporon spp 1 /	(1)
3 413 Trichosporon spp 2	Cryptococcus neoformans 1	
3 413 Trichosporon spp 2	7 100 Candida famata	(2)
1 000 Candida lusitanae	7 102 Candida albicans	
1 000 Candida lusitanae	7 104 Candida famata	(3)
1 000 Candida lusitanae	7 110 Candida lusitanae / Candida albicans	
1 000 Candida lusitanae	7 112 Candida albicans	(4)
1 000 Candida lusitanae	7 120 Candida lusitanae / Candida famata /	
1 000 Candida lusitanae	Candida guilliermondii	(5)
1 000 Candida lusitanae	7 200 Saccharomyces cerevisiae	
1 000 Candida lusitanae	7 204 Candida kefyr	(6)
1 000 Candida lusitanae	7 213 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 220 Candida guilliermondii	(7)
1 000 Candida lusitanae	7 224 Candida kefyr	
1 000 Candida lusitanae	7 241 Cryptococcus neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 243 C. neoformans 1 / C. neoformans 2 /	
1 000 Candida lusitanae	Trichosporon spp 1	(8)
1 000 Candida lusitanae	7 251 Cryptococcus neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 253 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1	(9)
1 000 Candida lusitanae	7 300 Saccharomyces cerevisiae	
1 000 Candida lusitanae	7 310 Saccharomyces cerevisiae	
1 000 Candida lusitanae	7 312 Candida albicans	
1 000 Candida lusitanae	7 320 Candida guilliermondii	(10)
1 000 Candida lusitanae	7 324 Candida kefyr	
1 000 Candida lusitanae	7 341 Cryptococcus neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 351 Cryptococcus neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 413 Trichosporon spp 1 / Trichosporon spp 2	
1 000 Candida lusitanae	7 417 Trichosporon spp 1 / Trichosporon spp 2	
1 000 Candida lusitanae	7 420 Candida lusitanae / Candida guilliermondii	(11)
1 000 Candida lusitanae	7 441 C. neoformans 1 / C. neoformans 2	
1 000 Candida lusitanae	7 453 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 457 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 500 Candida lusitanae / Candida lusitanae	
1 000 Candida lusitanae	Candida famata	(12)
1 000 Candida lusitanae	7 510 Candida famata	
1 000 Candida lusitanae	7 512 Candida albicans	
1 000 Candida lusitanae	7 513 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 520 Candida lusitanae	
1 000 Candida lusitanae	7 530 Candida lusitanae	
1 000 Candida lusitanae	7 553 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 557 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 600 Candida guilliermondii	
1 000 Candida lusitanae	7 603 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1	(13)
1 000 Candida lusitanae	7 611 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 613 Trichosporon spp 1	(14)
1 000 Candida lusitanae	7 617 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 620 Candida guilliermondii	
1 000 Candida lusitanae	7 641 Cryptococcus neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 643 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1	(15)
1 000 Candida lusitanae	7 647 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 651 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 652 Trichosporon spp 1	(16)
1 000 Candida lusitanae	7 653 Trichosporon spp 1 / C. neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 657 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 671 C. neoformans 1 / Trichosporon spp 1	(17)
1 000 Candida lusitanae	7 700 Candida guilliermondii	
1 000 Candida lusitanae	7 713 Trichosporon spp 1	(18)
1 000 Candida lusitanae	7 717 Trichosporon spp 1	
1 000 Candida lusitanae	7 720 Candida guilliermondii	
1 000 Candida lusitanae	7 741 Cryptococcus neoformans 1	
1 000 Candida lusitanae	7 751 C. neoformans 1 / Trichosporon	(19)
1 000 Candida lusitanae	7 753 T...	